

**Всеукраїнська наукова конференція молодих учених
«Фізіологія: від молекул до організму»
20-21 жовтня 2011 року**

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України

Секції:

- Молекулярна та клітинна фізіологія
- Нейрофізіологія
- Фізіологія вісцеральних систем

Голова програмного комітету:

Кришталь О. О. (*Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ*)

Голова організаційного комітету:

Федоренко Олена (*Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ*)

Сайт конференції:

<http://physiology.org.ua/conf/young2011>

МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА ФІЗІОЛОГІЯ

BIOPHYSICAL MECHANISMS OF HIPPOCALCIN SIGNALING IN DENDRITES OF HIPPOCAMPAL NEURONS

Cherkas V. P.¹, Kononenko N.I.¹, Dovgan A. V.¹, Haynes L. P.², Burgoyne R. D.,² Belan P. V.¹
cherkas@biph.kiev.ua

¹ *O.O.Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv;* ² *University of Liverpool, United Kingdom*

We have shown previously that hippocalcin, a Ca^{2+} -binding protein which is a key mediator of many cellular functions, may decode neuronal activity into hippocalcin translocation in dendrites of hippocampal neurons. In order to better understand hippocalcin signalling properties we have further examined the biophysical mechanisms leading to hippocalcin translocation in dendrites. The neuronal plasma membrane can have suboptical invaginations, such as caveolae, that effectively increase plasma membrane area. Thus, even during uniform hippocalcin insertion in the plasma membrane, such sites would demonstrate an increased amount of translocated hippocalcin compared to plain membrane loci. Co-expressing hippocalcin-ECFP and EYFP-Mem, a fusion protein that nonspecifically targets EYFP to plasma membranes, we tested whether the translocation was spatially correlated with plasma membrane enriched sites. No significant correlation was observed implying higher hippocalcin affinity for translocation sites. We also checked whether translocation sites are associated with sites of higher $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Creating uniform $[\text{Ca}^{2+}]_i$ transients in a dendritic segment, we have shown that hippocalcin translocation was significantly different in neighbouring sites having analogous patterns of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ changes. Producing long-lasting elevations of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ by activation of different Ca^{2+} mobilizing mechanisms, we have also demonstrated that hippocalcin translocation was observed in the same set of sites independently of Ca^{2+} source. These results indicate that $[\text{Ca}^{2+}]_i$ is not the only determinant of hippocalcin translocation. Furthermore we have also developed original approaches to quantitatively, separately and simultaneously measure hippocalcin concentration in cytosolic and membrane cellular fractions of single living hippocampal neurons. Based on these approaches we have found that the membranous hippocalcin concentration in dendritic membranes can be increased more than 10 times during long-lasting elevations of $[\text{Ca}^{2+}]_i$. We conclude that hippocalcin may serve as a site specific messenger with a high dynamic range allowing precise modulation of its targets.

MODEL MEMBRANE STUDY INTO TOXICITY OF PREFIBRILLAR LYSOZYME AGGREGATES

Kastorna A.P., Trusova V.M., Gorbenko G.P.
anna_kastornaya@ukr.net

V.N. Karazin Kharkiv National University

A number of recent studies confirmed the hypothesis that more than 20 age-related diseases, including Alzheimer's, Parkinson's, diseases and type II diabetes, are associated with the deposition of insoluble protein aggregates in various organs. These protein aggregates, known as amyloid fibrils, were found to be well-ordered fibrous, rich in β -sheets structures. It is widely accepted, that cell membrane disruption induced by amyloid-membrane interactions is an objective cause of cell death. A growing body of evidence has demonstrated that most highly toxic species are the pre-fibrillar aggregates whereas mature fibrils are substantially harmless. Elucidating the primary pathological events is of a great importance for more effective treatment of amyloid-related disorders. The present study has been undertaken to ascertain the effect of oligomeric lysozyme species on the structural properties of the model membranes composed of phosphatidylcholine. To achieve this purpose we used fluorescence spectroscopy technique. Unilamellar lipid vesicles were prepared by the extrusion method. Fluorescence measurements were carried out at 4th and 10th days of the reaction of fibrillization (protein incubation in 80% ethanol under continuous agitation). For evaluating the extent of lipid bilayer modifications the nonpolar fluorescent probe pyrene has been employed. Excited molecules of this probe can interact with non-excited ones thus forming excimers. Excimer-to-monomer fluorescence intensity ratio (E/M)

reflects the extent of pyrene excimerization, which is determined by the frequency of collisions between pyrene moieties in the lipid bilayer and correlates with the lipid packing density. Our data revealed the decrease of E/M value with the growth of aggregated protein concentration. The effect was more pronounced (about 15 %) at the 10th day. The reduction of pyrene excimerization can be explained by the increase of membrane viscosity under influence of pre-fibrillar aggregates of lysozyme. VT gratefully acknowledges a young scientist award by the President of Ukraine (project number GP/F32/109). This work was supported by the grants from the Science and Technology Center in Ukraine (project number 4534) and Fundamental Research State Fund (project number F.41.4/014).

SPINAL CORD PROTEIN KINASE C BLOCKING ATTENUATES NOCICEPTIVE HYPERSENSITIVITY AND INCREASED Ca^{2+} -PERMEABILITY OF AMPARS AT THE SYNAPSES IN DORSAL HORN NEURONS DURING PERSISTENT INFLAMMATION

Sotnyk A., Kopach O., Viatchenko-Karpinski V., Belan P., Voitenko N.
sotnik@biph.kiev.ua

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv

Previously we have shown that persistent peripheral inflammation changes trafficking of AMPA receptors (AMPArs) at the synapses in dorsal horn neurons. However, the molecular mechanisms underlying these changes are poorly understood. Here, we examined the *in vivo* and *in vitro* effects of protein kinase C (PKC) blocking on thermal hyperalgesia, and AMPAR-mediated synaptic currents in the substantia gelatinosa (SG) neurons of rat spinal dorsal horn. Peripheral inflammation was induced by the subcutaneous injection of 100 μ l of Freund's Complete Adjuvant (CFA) into the hind paw. Thermal sensitivity of rats was determined as paw withdrawal latency (PWL) in Hargreaves' plantar test. A selective blocker of PKC chelerythrine (chelerythrine chloride, 10 μ M) was applied locally to the spinal cord lumbar segments via intrathecal catheter 24 hours after CFA injection. CFA injection produced a development of hyperalgesia on the ipsilateral side of the rats that maintained at least for 4 days (PWL dropped from 11.1 ± 0.6 s to 4.7 ± 0.4 s after 24 hours post-CFA). After 3 hours of treatment with chelerythrine, PWL was significantly increased to 10.0 ± 0.8 s ($n = 9$; $p < 0.001$), that was similar to the control value. At the same time, chelerythrine did not produce any side effect on thermal sensitivity of rats (PWL was 11.9 ± 0.7 s at 3 h after Chy injection). Testing *in vitro* effect of PKC inhibition, we found that AMPAR-mediated evoked post-synaptic currents (EPSCs) show the significant inward rectification after peripheral inflammation, which reflects increase in Ca^{2+} -permeability of AMPARs. To quantitatively measure rectification of EPSCs, we calculated a rectification index (RI) that was expressed as a ratio of EPSC amplitudes at +40 and -70 mV holding potentials. CFA-induced inflammation was accompanied by the noticeable decrease of RI from 0.26 ± 0.01 ($n=16$) to 0.19 ± 0.02 ($n=7$) in SG neurons 24 h after CFA injection. Treatment with chelerythrine led to increase in RI, bringing it back to the normal level of 0.26 ± 0.02 ($n=8$). Thus, inhibition of spinal cord PKC significantly attenuates the peripheral inflammatory pain as well as the changes in Ca^{2+} -permeability of AMPARs, proving the important role of PKC in the inflammatory pain.

NOVEL AMINO BENZANTHRONE FLUORESCENT DYES FOR MONITORING AMYLOID FIBRILS IN VITRO

Vus K. O., Trusova V. M., Gorbenko G. P., Kirilova E. , Kirilov G., Kalnina I.
katenka.vus@mail.ru

V.N. Karazin Kharkiv National University, Daugavplis University

The past decade has seen significant upsurge of interest in amyloid fibrils structure and properties that is essential for understanding their cytotoxicity. Of great importance in this regard is the design of new fluorescent dyes which can selectively interact with fibrillar amyloidogenic proteins. In the present study we ascertained the ability of recently synthesized aminobenzanthrones IA_H, IB_H, IS_H to associate with the early precursors of fibrillar hen egg white lysozyme, which play crucial role in amyloid cytotoxicity. Fluorimetric titration of the probes with lysozyme oligomers (O) withdrawn at the 8th day of protein agitation in 80% EtOH was used to evaluate the binding affinities of the novel dyes for these pathological entities, which were found to be similar to those for native (N) and denatured protein (D, incubated in 80% EtOH without agitation). The quantum yields (Q) of the IB_H and IS_H bound to D were

2 and 3 times higher compared to O-bound probes, respectively, and IAH dye showed the same Q values in the presence of O and D. Likewise, quantum yield of the O- and D-bound probes were ~10 times higher than those for N-bound fluorophores, indicating that aminobenzanthrones poorly interact with the monomeric protein. Moreover, the relative intensity increases of the O- and D-bound dyes compared to their molar fluorescences in buffer turned out to be ~2-3 times higher than those for N-bound probes, and their fluorescence intensity increase in the presence of O and D was more pronounced compared to that in N. Together, the obtained data indicate that due to high affinity (~1-10 μM) and quantum yield increase of the aminobenzanthrones in presence of lysozyme oligomers, novel dyes, especially the IBH, displaying the highest values of the above parameters, have a potential to be used for in vitro monitoring of pre-fibrillar aggregates. Similar to promising amyloid marker IAH, IBH and ISH display weak binding to native lysozyme. VT gratefully acknowledges a young scientist award by the President of Ukraine (project number GP/F32/109). This work was supported by the grants from the Science and Technology Center in Ukraine (project number 4534) and Fundamental Research State Fund (project number F.41.4/014).

LYSOZYME-MEMBRANE INTERACTIONS STUDIED WITH A NEW FLUORESCENT DYE

Zhytniakivska ¹ I.A., Kutsenko ¹ O.E., Trusova ¹ V.I., Gorbenko¹ G.P., Kirilova ² E.M.
 olya_zhitniakiska@yahoo.com

¹ V.N. Karazin Kharkiv National University, ² Daugavpils University

Lysozyme is a hydrolytic enzyme, which plays an important role in various physiological processes. Lipid-binding properties of lysozyme are hypothesized to be essential for its biological functions including antimicrobial, antitumor, and immunomodulatory activities. The present study was focused on examining the lysozyme interaction with model membranes, composed of phosphatidylcholine (PC) and its mixtures with cardiolipin (CL) and cholesterol (Chol). For this purpose a newly synthesized dye, referred to here as IAH, was employed. First of all we evaluated the lipophilic properties of IAH and its sensitivity to the membrane environment. At the second step of the study we characterized IAH-lipid interaction by determining the dye partition coefficient for different lipid systems. It was shown that Chol and CL addition to PC membranes resulted in the increase of fluorescence quantum yield and partition coefficient relative to the neat PC membrane, which can be explained in terms of structural differences between liposomes. At the last step of the study we examined the lipid-binding properties of lysozyme. For this purpose we used fluorescence anisotropy measurements for different model membranes. Analysis of the recovered anisotropy values shows that incorporation of the lysozyme into CL-containing bilayers brings about the increase of IAH fluorescence anisotropy, relatively to neat PC membrane. This effect can be explained by the increase on packing density of lipid headgroups after lysozyme additions, the hydrophobic interactions of the protein with the acyl chains of lipid molecules and self-association of bilayer-embedded protein molecules. To summarize, the present study revealed that the IAH dye displays high lipid-associating ability and pronounced sensitivity to lysozyme-lipid interactions. Lysozyme ability to increase membrane rigidity upon binding to anionic lipids may be relevant to its biological activities. This work was supported by the grants from European Social Fund (project number 2009/0205/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/152), the Science and Technology Center in Ukraine (project number 4534), Fundamental Research State Fund (project number F.41.4/014) and young scientist award by the President of Ukraine to VT (project number GP/F32/109).

АНАЛІЗ ВПЛИВУ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ПОЛЯ НА СИСТЕМУ АКТИВНОГО ТРАНСПОРТУ ЗАРОДКОВИХ КЛІТИН

Бура М.В., Мандзинець М.В., Яремкевич О.С. ¹
 mcelevych@yahoo.com

Львівський національний університет імені Івана Франка, ¹Національний університет "Львівська Політехніка"

Процеси взаємодії електромагнітного поля (ЕМП) з живою клітиною або цілим організмом, зокрема із зародком, надзвичайно складні і нині недостатньо вивчені. Метою нашої роботи було дослідження впливу ЕМП на ферментативну активність системи первинно-активного транспорту Na^+ та

K^+ зародків *Misgurnus fossilis* L. упродовж раннього ембріогенезу в умовах *in vivo*. Проби відбирали на стадіях 2, 16 та 64 бластомерів, 8 та 10 поділів. Електромагнітну обробку зародків проводили за допомогою генератора ЕМП відразу після запліднення. Інкубовані в розчині Гольтфретера зародки поміщали в центрі соленоїда і 15 хв опромінювали ЕМП (частота 27,14 МГц). Оптимальні умови підбирали експериментально. Активність Na^+ , K^+ -АТФази зародків визначали модифікованим методом Фіске–Суббароу, вміст білка у пробі – методом Лоурі. У результаті проведених досліджень встановлено, що ЕМП достовірно знижувало активність Na^+ , K^+ -АТФази у порівнянні з контролем. Особливо в першу годину розвитку цей показник знизився на $19,3\% \pm 0,9\%$ ($P < 0,05$). Імовірно такі зміни пов'язані з дуже низькою чутливістю зародків до впливу екзогенних факторів на ранніх етапах бластуляції. На наступних етапах поділів встановлено виражене зниження активності АТФази за дії ЕМП у порівнянні з контролем у середньому на $53,6\%$ ($P < 0,001$). Найбільш чутливість зародків до дії ЕМП виявлено на стадії 8 поділу бластомерів – на пізніх етапах бластуляції. Девятков Н.Д. виявив зниження іонної проникності мембран еритроцитів, збільшеної в результаті електричного пробою, а також збільшення електричної міцності еритроцитів при дії ЕМП. Можливо, електромагнітне випромінювання нетеплових інтенсивностей здатне індукувати структурну перебудову в мембранах, чим можна пояснити і зниження активності Na^+ , K^+ -АТФази зародків. Крім цього, ЕМП впливає на окиснення SH-груп, з якими пов'язані більшість біологічних процесів: проникність клітинних мембран, функції рецепторів, активність ферментів, синтез біомакромолекул і ліпопротеїнових комплексів, а також клітинний поділ, порушення останнього відмічено в експериментах.

ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОДІЇ НОВОГО ПРОТОТИПУ АНТАГОНІСТА ASIC 1A З ЙОГО РЕЦЕПТОРОМ

Бута А.З.¹, Сукач В.А.², Максимюк О.П.¹, Ковальський Д.Б.³, Вовк М.В.², Кришталь О.О.¹
buta@deptcm.kiev.ua

¹Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ, ²Інститут органічної хімії НАН України, Київ, ³Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ

pH-чутливі іонні канали (ASICs) – рецептори до протонів тканинного середовища. За останніми науковими даними, окремі їх типи, що експресуються у мозку, задіяні у розвитку багатьох важких захворювань нервової системи: ішемічний інсульт, розсіяний склероз, епілепсія тощо. Рецептор ASIC 1a, один з шести ідентифікованих типів, що експресується у різних відділах головного мозку людини. Він здатен у гомомерній формі пропускати іони кальцію у цитозоль нейронів. Надмірний вхід кальцію, що спостерігається під час розвитку ішемічного ацидозу, призводить до загибелі нейронів. Пошук селективних і високоефективних антагоністів до ASIC 1a-рецептора є нині однією з ключових проблем у лікуванні таких важких недуг. Із застосуванням методу фіксації patch-clamp потенціалу у конфігурації відведення струму від цілої клітини ми показуємо особливості взаємодії розробленого нами прототипу селективного та високоефективного антагоніста ASIC 1a каналу з його рецептором на мембрані лінії клітин НЕК-293, що ендегенно експресують гомотример цього каналу. Похідна речовина 3-карбоксамідинокумарину (#005) оборотно зв'язується з рецептором ASIC 1a, зменшуючи амплітуду струму опосередкованого цим каналом. Ефективність взаємодії антагоніста з рецептором залежить від pH. Ефективність інгібування значно зростає у напрямку менш кислих значень pH. Концентрація половинного пригнічення амплітуди струму (IC50) при pH 5,0 становить 7 мкмоль/л, тоді як при pH 6,7 – лише 27 нмоль/л. До того ж це інгібування не залежить від підтримуваного потенціалу мембрани, що є дуже важливим для тривалого інгібування активності цих каналів в умовах ішемічного ацидозу, особливо у перші години розвитку недуги. Відомий неселективний блокатор ASICs – амilorид подібного pH-залежного блокування не виявляє, проте його активність демонструє чітко виражену потенціалзалежність. Крім того, новий тип антагоніста #005 сповільнює кінетику активації ASIC 1a-опосередкованого струму, причому залежно від pH. Стала часу (τ) кінетики активації протоніндукованого струму за наявності речовини #005 сповільнюється у напрямку зростання значення pH і сягає максимуму при pH 6,4, τ кінетики активації ASIC 1a струму за наявності 100 нмоль #005 при pH 5,0 сповільнюється лише в 1,6 раза, тоді як при pH 6,4 – у 4 рази.

ВПЛИВ ІОНІВ ЦИНКУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ СКОРОТЛИВИХ БІЛКІВ СЕРЦЕВОГО М'ЯЗА**Гавриляк В. Б., Богуцька К. І.****biophys@univ.kiev.ua***Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

Проблема регуляції функціональної активності м'язів і каталітичних механізмів забезпечення цього процесу завжди була і залишається актуальною для фізіології, біофізики, біохімії та фармакології м'язів. Важливим у цьому контексті є вивчення впливу фізико-хімічних чинників середовища на функціональні характеристики скоротливих білків міокарда. Крім того, отримання нових експериментальних результатів з біологічної дії іонів металів на організм з точки зору молекулярних механізмів такої дії на субклітинному рівні сприятиме розробці методів підвищення стійкості організму до дії шкідливих факторів та терапії інтоксикацій, викликаних сполуками металів. Є дані про порушення обміну цинку за різних патологічних станів, у тому числі при атеросклерозі, інфаркті міокарда тощо. Також при дослідженні вмісту мікроелементів у різних ділянках лівого шлуночка хворих на ішемічну хворобу серця методом рентгенофлуоресцентного аналізу був виявлений дисбаланс мікроелементів, зокрема різко підвищений вміст цинку. Отже, метою цієї роботи було дослідження впливу іонів цинку на процеси, які моделюють молекулярний механізм скорочення м'язів, а саме реакцію суперпреципітації (СПП) актоміозинового комплексу, а також АТФ-гідролазну реакцію, що каталізується міозином. У роботі використовували методи препаративної білкової хімії, хроматографії та оптичної спектроскопії. Показано, що у діапазоні концентрацій 0,1-5 ммоль/л іони цинку пригнічують залежну реакцію суперпреципітації актоміозину та Ca^{2+} -АТФазу активність міозину серцевого м'яза. Проведені дослідження ефектів впливу іонів цинку на перебіг реакції СПП актоміозину та АТФазу активність міозину серцевого м'яза засвідчили, що Zn^{2+} , вірогідно, здатен (1) заміщати іони кальцію або магнію, хоча таке заміщення менш ефективне для реалізації СПП та АТФ-гідролазного процесу, та (2) модулювати актинміозинову взаємодію, змінюючи функціональні характеристики актоміозинових макромолекул м'яза. У роботі проведено порівняння оригінальних результатів з відомими даними щодо впливу інших двовалентних іонів – стронцію та кадмію – на вищезгадані процеси. Отримані результати розширюють існуючі уявлення щодо впливу фізико-хімічних чинників середовища, а також вказують шляхи можливого використання іонів цинку у регуляції функціональної активності м'язів.

ОКИСНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС У СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ**Дворщенко К.О., Сенін С.А., Берник О.О., Остапченко Л.І.
k21037@gmail.com***Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

Значне місце серед хвороб травної системи займають гіпоацидні стани, які виникають внаслідок порушення секреції соляної кислоти парієтальними клітинами шлунка. Тривала гіпохлоргідрія призводить до атрофії та метаплазії слизової оболонки шлунка. Неспецифічною ланкою пошкодження тканин є порушення окисно-антиоксидантного балансу, показники якого можуть бути використані як допоміжні маркери розвитку патологічного процесу. Тому метою нашої роботи було дослідити окисно-антиоксидантний баланс у слизовій оболонці шлунка щурів за умов тривалого пригнічення секреції соляної кислоти. Досліди проводили на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях. Гіпоацидний стан моделювали внутрішньоочеревним введенням 14 мг/кг омепразолу («Sigma», США) раз на добу протягом 28 діб. Як контроль використовували щурів, яким протягом цього часу вводили внутрішньоочеревинно 0,2 мл води для ін'єкцій. Вміст дієнових кон'югатів визначали в гептан-ізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом, шиффових основ – флуориметричним методом, вміст ТБК-активних сполук – за реакцією з тіобарбітуровою кислотою. Активність супероксиддисмутази оцінювали за використанням нітросинього тетразолію, каталази – за зменшенням кількості H_2O_2 у розчині після інкубації за оптимальних умов. Статистичну обробку результатів проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням критерію t Стьюдента. Встановлено, що за умов тривалого пригнічення шлункової секреції соляної кислоти омепразолом у слизовій оболонці шлунка щурів вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів збільшувався: дієнових кон'югатів – в 3,5 раза, ТБК-активних сполук – в 4,6 раза та шиффових

основ – 3,1 раза відносно контрольних значень. При оцінці антиоксидантної системи у слизовій оболонці шлунка щурів з тривалою гіпохлоргідрією зафіксовано зростання активності супероксидмутази та каталази в 5,5 та 1,3 раза відповідно порівняно з контролем. Отримані результати свідчать, що за умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії у епітеліоцитах шлунка порушується окисно-антиоксидантна рівновага: посилюється продукція активних форм кисню, про що вказують зміни супероксиддисмутази та каталазної активностей та накопичення продуктів ліпідної пероксидації.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ ІМУННИЙ ГЕСТОЗ У МИШЕЙ: РОЛЬ NO У СПОНТАННІЙ СКОРОТЛИВІЙ АКТИВНОСТІ МІОМЕТРІЯ

Калейнікова О.М.

syana_ds@ukr.net

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Протягом останнього десятиліття інтенсивно вивчають потенційні механізми, що лежать в основі патогенезу імунного гестозу. Зокрема виробництво плацентою різноманітних факторів, що змінюють вміст реактивних форм кисню: супероксидного та гідроксильного радикалів та оксиду азоту (NO). Тоді як роль останнього у регулюванні спонтанної скоротливої активності міометрія залишається суперечливою. Метою нашої роботи стало дослідження ролі NO у скоротливій активності міометрія миші при моделюванні імунного гестозу. Дослідження проведені на самицях мишей лінії СВА (8 тиж, 16-18 г, n=52). Моделювання імунного гестозу здійснювали імунізацією тварин тканиною алогенного яєчника. Одночасно *in vivo* вводили неспецифічний блокатор NO-синтази (L – NAME), специфічний блокатор індукцибельної NO-синтази (AG) та аргінази (L-Norvaline). Силу ізометричних скорочень вимірювали механо-електричним перетворювачем. Метод фазно-графічного аналізу використовували для оцінки фазних скорочень. Досліджувані показники: амплітуда скорочення, максимальна швидкість скорочення та розслаблення та індекс скоротливості (IC). Для статистичної обробки результатів використовували пакет програм Origin 8Pro та електронні таблиці «Microsoft®Excel2003». Достовірність різниці середніх значень визначали за критерієм t Стьюдента, достовірними вважали значення $P < 0,05$. Встановлено, що IC міометрія миші в групі тварин із імунним гестозом зростає на кінець імунізації відносно контрольних значень (інтактних тварин). У групі тварин із імунним гестозом та L – NAME IC міометрія зменшується на кінець імунізації та підвищується ($P < 0,001$) на 12-ту добу після імунізації. У групах тварин із імунним гестозом і L-Norvaline та імунним гестозом і AG цей показник зростає на кінець імунізації та зменшується на 12-ту добу після неї, при цьому в останній групі спостерігали вагітних тварин. Отримані результати свідчать про участь оксиду азоту в регуляторних механізмах процесів репродукції та формування скоротливої активності міоцитів матки, причому особливу роль у патогенезі імунного гестозу відіграє індукцибельна NO-синтаза.

ЗАЛЕЖНІСТЬ АТФАЗНИХ АКТИВНОСТЕЙ ІЗОЛЬОВАНИХ ПЕРМЕАБІЛІЗОВАНИХ СЕКРЕТОРНИХ КЛІТИН ЗОВНІШНЬООРБІТАЛЬНОЇ СЛІЗНОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРА ВІД КОНЦЕНТРАЦІЇ Ca^{2+} У СЕРЕДОВИЩІ

Котлярова А.Б., Малоїд М.П., Манько В.В.

annkotliarova@gmail.com

Львівський національний університет імені Івана Франка

Для експериментального обґрунтування методу дослідження функціонування іонтранспортувальних систем секреторних клітин *in situ* встановлено залежність АТФазних активностей від концентрації Ca^{2+} у середовищі. Дослідження проводили на нелінійних щурах-самцях масою 200–300 г. Секреторні клітини зовнішньоорбітальної слізної залози ізолювали дворазовою почерговою інкубацією у позаклітинному середовищі, що містить суміш колагенази та лідази, і середовищі, до складу якого входить ЕГТА (2 ммоль/л). Пермеабілізацію клітин проводили їх інкубацією з дигітоніном (30 мкг/мл, 10 хв) у середовищі, наблизеному за складом до внутрішньоклітинного. Для блокування Na^+K^+ -помпи до середовища додавали строфантин К (100 мкмоль/л), а для блокування дихального ланцюга – азид натрію (10 ммоль/л). Як блокатор Ca^{2+} -помп плазматичної мембрани та ендоплазматичного ретикулула використовували еозин Y (20 мкмоль/л). АТФазну реакцію запускали додаванням до середовища інкубації клітин АТФ (3 ммоль/л). Концентрацію неорганічного

фосфору у середовищі визначали спектрофотометричним методом (УФ-детекція фосфомолібдатного комплексу). Підрахунок кількості клітин здійснювали за допомогою камери Горяєва. Встановлено, що сумарна строфантин-К-нечутлива АТФазна активність пермеабілізованих секреторних клітин помірно залежить від концентрації Ca^{2+} у середовищі із вираженим максимумом за 10^{-6} моль/л і деяким зниженням за 10^{-4} моль/л. Аналогічна закономірність притаманна також для сумарної строфантин-К- і еозин-У-нечутливої АТФазної активності, яка пов'язана, очевидно, із синтетичними та іншими секреторними процесами у клітинах. На відміну від цього, залежність еозин-У-чутливої Ca^{2+} -АТФазної активності від концентрації Ca^{2+} більш суттєво виражена, хоча максимум теж спостерігається за 10^{-6} моль/л Ca^{2+} у середовищі. Наведені результати дають змогу стверджувати про адекватність запропонованого методу дослідження Ca^{2+} -АТФазної активності секреторних клітин в умовах *in situ*.

АКТИВАЦІЯ АТФ-ЧУТЛИВОГО КАЛІЄВОГО КАНАЛУ МІТОХОНДРІЙ МІОМЕТРІЯ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ

Мазур Ю. Ю.

yuliya.vorona@gmail.com

Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАН України, Київ

Відомо, що активні форми кисню (АФК) мають подвійну роль у клітині: з одного боку вони спричиняють ушкодження клітинних структур, з іншого є клітинними месенджерами, які захищають клітини в умовах оксидативного стресу. Протекторну роль також відіграють мітохондріальні АТФ-чутливі калієві канали (міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$), що показано на клітинах мозку та кардіоміоцитах. На основі цих даних зроблено припущення, що АФК регулюють роботу каналу в клітинах міометрія. Тому метою роботи стало дослідження впливу АФК на функціонування міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ у клітинах міометрія. Оксидативний стрес індукували ротеноном. Збільшення продукції АФК у відповідь на додавання ротенону спостерігали за допомогою АФК-чутливого флуоресцентного зонду дихлорфлуоресцеїн діацетату. Активацію каналу досліджували реєструючи зміну мембранного потенціалу мітохондрій за допомогою потенціалчутливого зонду $\text{DiOC}_6(3)$ у відповідь на додавання активатора міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ діазоксиду. При внесенні діазоксиду (50 мкмоль/л) спостерігалася часткова деполяризація мембрани мітохондрій міометрія, яка усувалася за наявності блокатора міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ глібенкламід. Таким чином, спричинені діазоксидом та чутливі до глібенкламід зміни потенціалу мітохондріальної мембрани міометрія опосередковані активацією міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$. Дія діазоксиду на мембранний потенціал мітохондрій була концентраційнозалежною у діапазоні концентрацій $0,5\text{-}50 \text{ мкмоль/л}$. Уявна константа спорідненості діазоксиду до міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ ($\langle K_{1/2} \rangle_p$) за наявності ротенону становила $(1,24 \pm 0,21) \cdot 10^{-6} \text{ моль/л}$. Діазоксид також деполяризував мітохондріальну мембрану в умовах нормоксії, але $\langle K_{1/2} \rangle$ у цьому разі була більшою і становила $(5,01 \pm 1,47) \cdot 10^{-6} \text{ моль/л}$. Тобто в умовах оксидативного стресу константа спорідненості діазоксиду до міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ міометрія є у 4 рази меншою, ніж в умовах нормоксії. Окрім того, скавенджер АФК N-ацетилцистеїн (1 ммоль/л) попереджав деполяризацію діазоксидом мітохондріальної мембрани. Тобто усунення АФК при внесенні N-ацетилцистеїну зменшувало активацію міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ діазоксидом. Таким чином, зростання спорідненості активатора міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ діазоксиду до міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ міометрія щурів в умовах суперпродукції АФК, а також інактивація каналу за наявності N-ацетилцистеїну свідчать на користь нашої гіпотези про те, що АФК регулюють активність міто $\text{K}_{\text{АТФ}}$ у клітинах міометрія за умов оксидативного стресу.

АНАЛІЗ ХІМІЧНОГО СКЛАДУ ПРЕПАРАТУ ВІЛОЗЕНУ ТА ЙОГО ВПЛИВ НА КАЛЬЦІЄВУ СИГНАЛЬНУ СИСТЕМУ КЛІТИН ЛІНІЇ JURKAT IN VITRO

Морєв Р. М., Якубовський Ю. О., Шуба Я. М.

moriev.r.m@gmail.com

Міжнародний центр молекулярної фізіології НАН України, Київ;

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;

Інститут біохімії ім.О.В.Палладіна НАН України, Київ

Вілозен – низькомолекулярний препарат тимуса, який має імуномодулюючі, протиалергічні властивості. Нині не досліджені молекулярні механізми дії вілозену, точно не встановлений його склад та біологічно активні компоненти. Нами було досліджено зразки вілозену виробництва фармацевтич-

ної компанії «Біофарма». Препарат був фракціонований за допомогою високоефективної рідинної хроматографії на оберненій фазі. Отримані фракції були проаналізовані за допомогою методу тандемною рідинної мас-спектрометрії та тонкошарової хроматографії. Був визначений вміст амінокислот і пептидів препарату за допомогою високоефективної рідинної іонообмінної хроматографії та отриманий його інфрачервоний спектр. Для дослідження впливу вілозену на кальцієву сигнальну систему лімфоцитів було використано іморталізовані лейкозні Т-лімфоцити людини (лінії Jurkat). Аналіз хімічного складу вілозену підтвердив те, що він складається зі сполук із молекулярною масою близько 1 кДа. Показано, що вміст пептидів не перевищує 5%, а основні компоненти, ймовірно, містять у своїй структурі залишки пуринових і піримідинових основ і не мають амінокислотних залишків. Препарат вілозен викликав вивільнення іонів кальцію із внутрішньоклітинних кальцієвих депо та депозалежний вхід кальцію із зовнішньоклітинного середовища подібно до конконоваліну А в моделі культури клітин Jurkat in vitro. Препарат викликав кальцієві сигнали тільки після попередньої стимуляції конконоваліном.

ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ КАНАЛІВ ВЕЛИКОЇ ПРОВІДНОСТІ В НЕЙРОНАХ ПУРКІНЬЄ МОЗОЧКА ЩУРА

Семенова О.В., Федоренко О.А., Марченко С.М.

lesj@ukr.net

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Зовнішня та внутрішня ядерні мембрани поділяють клітинний простір на нукле-, пери- та цитоплазматичний. Через складність отримання та очищення внутрішньої мембрани ядер відносно мало відомо про іонні трансмембранні канали, що пропускають катіони та аніони між люменом і внутрішньоядерним простором. Припускають, що канали ядерної оболонки беруть участь у регуляції транскрипції генів і проведенні кальцієвого сигналу з люменарного простору, який відіграє роль кальцієвого депо. З використанням методу patch-clamp нами було досліджено вірогідність впливу наповненого кальцієм ядерної мембрани на активність катіонних каналів великої провідності. Для цього ми дослідили активність каналів при відсутності кальцію з боку люменарного простору (EDTA, 1 ммоль/л) та за умов високої концентрації кальцію в депо (1 ммоль/л). Незрозуміло який потенціал може бути в мембрані ядра, але недавні дослідження показали, що він коливається в межах 40 мВ. За умов відсутності Ca^{2+} з боку люменарного простору вірогідність відкритого стану каналу на внутрішній ядерній мембрані, $P_o = 0,15 \pm 0,01$, при потенціалі -40 мВ . При високій концентрації іонів кальцію активність катіонних каналів великої провідності помітно не змінювалася, $P_o = 0,23 \pm 0,04$. Отримані результати свідчать про те, що ступінь наповнення кальцієвого депо істотно не впливає на активність катіонних каналів високої провідності внутрішньоядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка щура.

ОДЕРЖАННЯ АНТИТІЛ ДО КРИНГЛУ 1-3 ПЛАЗМІНОГЕНУ (АНГІОСТАТИНУ) ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ БІОМЕДИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ

Тихомиров А.О., Юсова О.І., Корса В.В., Діордієва С.І.

artem_tykhomyrov@ukr.net

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ

Однією з важливих передумов прогресії солідних пухлин та їх метастазування є патологічний ангиогенез. Встановлено, що найбільш потужними фізіологічними інгібіторами ангиогенезу є ангиостатини (АС). АС – поліпептиди, що утворюються у первинних пухлинних осередках в результаті обмеженого протеолізу молекули плазміногену (ПГ) та складаються з різної кількості його кринглових доменів. Розробка методів кількісного аналізу АС як маркерів прогресії пухлин та ризику метастазування є важливим науково-практичним завданням. Метою нашої роботи було отримання і характеристика моноспецифічних антитіл до фрагменту ПГ кринглу 1-3 (К1-3) людини для виявлення АС як діагностичних маркерів неопластичних процесів. Крингл 1-3 одержували з еластазного гідролізату ПГ гель-фільтрацією на сефадексі G-75 і афінною хроматографією на Lys-сефарозі та імунізували ним кролів. Пул специфічних IgG виділяли з імуноглобулінової фракції сироватки імунізованих тварин на афінному сорбенті K1-3-сефарозі. Імуноферментним аналізом визначили титр антитіл ($\approx 1:650000$). Антитіла демонстрували перехресну реактивність до гомологічних антигенів у такому

порядку: $\text{Glu-ПГ} \geq \text{Lys-ПГ} \geq \text{K1-3} > \text{міні-ПГ} > \text{K4}$. Таким чином, отримані високоспецифічні анти-тіла можуть бути використані в імунохімічному аналізі, зокрема імуноблотингу, для виявлення АС у біологічному матеріалі, а також застосовані при дослідженні ролі компонентів плазміноген/плазмінової системи у сигнальних механізмах, що лежать в основі таких фізіологічних процесів, як запалення, ремоделювання тканин, загоєння ран, проростання аксонів.

ВПЛИВ ПРОТИПУХЛИННОГО, ПРОТИВІРУСНОГО ТА ІМУНОМОДУЛЮЮЧОГО ПРЕПАРАТУ АМІТОЗИНУ НА КАЛЬЦІЄВУ СИГНАЛЬНУ СИСТЕМУ ТИМОЦИТІВ ЩУРА

Трембицька К. Є., Морєв Р. М., Шуба Я. М.

morev.r.m@gmail.com

Міжнародний центр молекулярної фізіології НАН України, Київ

Амітозин – протипухлинний, імуномодулюючий і противірусний препарат у медицині і ветеринарії, розроблений в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України, продукт алкілування тіофосфамідом алкалоїдів чистотілу великого *Chelidonium majus L.* Він – ефективний протиревматичний та противірусний препарат із широким спектром протипухлинної дії. На відміну від традиційних хіміотерапевтичних препаратів амітозин стимулює імунну систему. Цим може бути пояснена його протиревматична, противірусна і частково протипухлинна активність. Не досліджено, яким чином амітозин впливає на кальцієву сигнальну систему лімфоцитів, яка відіграє критичну роль в їх активації. Для дослідження впливу амітозину на кальцієву сигнальну систему *in vitro* було обрано тимоцити щура. Щоб визначити концентрацію іонів кальцію в цитозолі застосовували раціометричну флуоресцентну мікроскопію з кальцієвим зондом Fura-2 АМ. Внесення 10 мкг/мл амітозину викликало достовірне підвищення концентрації цитозольного кальцію на 65–100 нмоль/л з виходом на стаціонарний рівень. Процес підвищення починався при його внесенні в середовище з 2 ммоль/л іонів кальцію, чого не спостерігалося в безкальцієвому середовищі. Попереднє спустошення депо іонів кальцію 10 мкмоль/л тапсигаргіну не блокувало це явище. Отримані нами експериментальні результати свідчать про те, що амітозин викликає помірне збільшення проникності плазматичної мембрани до іонів кальцію і цей процес зумовлений механізмами незалежними від кальцієвого депо і активації кальцієвим сенсором STIM. Нещодавні дослідження показали, що паралельно з депозалежними механізмами активації входу кальцію в цитозоль у лімфоцитах важливий внесок роблять також іонні канали, які не активуються через білок STIM і тому є депонезалежними. За літературними даними до цих каналів, імовірно, належать TRPC3, TRPV6, TRPM7, потенціалкеро-вані канали L-типу, які експресуються на плазматичній мембрані T-лімфоцитів. Наші експериментальні результати можуть бути пояснені активацією цих каналів.

НЕЙРОНИ РІЗНИХ ВІДДІЛІВ ГІПОКАМПА ВІДРІЗНЯЮТЬСЯ ЗА НАБОРАМИ ІОННИХ КАНАЛІВ У МЕМБРАНАХ ЯДЕРНОЇ ОБОЛОНКИ

Федоренко О.А., Марченко С.М.

olena.fedorenko@biph.kiev.ua

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Нейрони гіпокампа відіграють важливу роль у формуванні пам'яті та навчанні. Було показано, що активація факторів транскрипції та синтез певних протеїнів, які беруть участь у синаптичній пластичності, потребують підвищення вмісту Ca^{2+} в ядрі цих нейронів. Проте досі невідомо якими механізмами регулюється надходження Ca^{2+} всередину ядра. У своїй роботі ми з'ясували які типи іонних каналів знаходяться у мембранах ядерних оболонок нейронів різних відділів гіпокампа, зокрема CA1- та CA3-ділянках і зубчастої звивини. Струми через поодинокі іонні канали реєстрували з використанням методу patch-clamp у конфігурації “nucleus-attached” або “excised patches” у режимі фіксації потенціалу. Виявилось, що нейрони різних відділів гіпокампа містять неоднакові набори іонних каналів як у зовнішній, так і у внутрішній ядерних мембранах. Іонні канали, які ми знайшли, розрізнялися за своєю селективністю, провідністю та характером роботи. Ми виявили у великій кількості інозитолтрифосфатні рецептори (IP_3Rs) у внутрішній ядерній мембрані пірамідальних нейронів CA1-ділянки гіпокампа та у значно меншому числі у внутрішній ядерній мембрані нейронів зубчастої звивини, проте в нейронах CA3-ділянки поодинокі IP_3Rs знаходилися лише у

зовнішній ядерній мембрані. Нам не вдалося зареєструвати будь-які інші типи кальцієвих каналів у мембранах ядер цих клітин, тому можна припустити, що ріанодинові та NAADP-рецептори відсутні на ядерній оболонці нейронів гіпокампа, або ж їх щільність настільки мала, що вони не можуть бути зареєстровані електрофізіологічними методами. Отже, наші дослідження вказують на те, що ядерна оболонка пірамідальних нейронів CA1-ділянки та нейронів зубчастої звивини гіпокампа може виконувати функцію кальцієвого депо, з якого через IP_3Rs Ca^{2+} вивільнюється всередину ядра, і таким чином може активувати кальційзалежні фактори транскрипції в цих нейронах.

**АНАЛІЗ ЕКСПРЕСІЇ МРНК ФАКТОРА НЕКРОЗУ ПУХЛИНИ α
В ПОДИНОКИХ ООЦИТАХ МИШЕЙ В НОРМІ
ТА В УМОВАХ АУТОІМУННОГО УШКОДЖЕННЯ ЯЄЧНИКІВ**

Шепель О.А., Досенко В.Є., Янчій Р.І.

elena-shepel@ukr.net

Інститут фізіології імені О.О.Богомольця НАН України, Київ

Фактор некрозу пухлини α (ФНП- α) – поліфункціональний цитокін, роль якого в оваріальній функції активно вивчається. Встановлено, що ооцити є важливим його джерелом, крім того, виявлено рецептори для ФНП- α на ооцитах, гранулярних і інтерстиціальних клітинах, що забезпечує ауто- і паракринні ефекти цього цитокіну. Метою нашої роботи було визначення експресії ФНП- α та його рецепторів I і II типу на рівні мРНК в поодиноких ооцитах мишей лінії CBA на двох стадіях оогенезу (стадія зародкового пухирця (ЗП+) і стадія формування першого полярного тільця (ПТ+)) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Нами встановлено експресію мРНК ФНП- α в поодиноких ооцитах інтактних мишей, причому її рівень на стадії ЗП+ вірогідно вищий, ніж на стадії ПТ+. Водночас нами не виявлено експресію рецепторів I і II типу для ФНП- α . Встановлено, що при аутоімунному ураженні яєчників в ооцитах мишей збільшується експресія гена ФНП- α у 1,7 раза порівняно з такою в ооцитах, отриманих від неімунізованих тварин. В умовах імунізації виявлено також експресію гена рецептора ФНО- α I типу. Таким чином, нами встановлено, що пригнічення мейотичного дозрівання ооцитів, яке спостерігається в умовах аутоімунного uszkodження яєчників, може бути пов'язане зі зростанням експресії ФНП- α в ооцитах та активацією експресії мРНК рецепторів I типу для цього цитокіну. На наш погляд, отримані результати є важливою ланкою у розумінні молекулярних механізмів, що регулюють мейотичне дозрівання ооцитів ссавців у нормі та при аутоімунному uszkodженні яєчників.

НЕЙРОФІЗІОЛОГІЯ

T-TYPE CALCIUM CHANNELS IN BRAIN CORTEX – NOVEL FUNCTION?

Boldyriev O., Batiuk M., Shuba Y.

alexey@biph.kiev.ua

International Center for Molecular Physiology NAS of Ukraine, Kyiv

Low-voltage activated (T-type, Ca_{v3}) calcium channels are widely expressed throughout mammalian organism – from central neurons to spermatozoons. They act as calcium input into the cell and are involved in many physiological processes such as pacemaker neural and cardiac activity, vesicle secretion, muscle contraction, gene expression regulation etc. Despite a lot of information was gathered about T-type channels localization and function there are still cells and tissues where their high mRNA level was found without any electrophysiological evidence (for example, human cardiomyocytes and rat cortical neurons. While studying T-channels involvement in absence-epileptic phenotype of WAG/Rij rat strain we discover 2,5-fold upregulation of $Ca_{v3.1}$ $\alpha 1$ -subunit mRNA in somatosensory cortex of upper lip (possible “cortical focus”) of this strain compared to control Wistar rats. The level of mRNA was comparative to one in laterodorsal thalamic nucleus which shows robust T-type current, We examined neurons of this region with patch-clamp technique but showed no T-type calcium currents (n=15). Membrane protein was extracted from somatosensory “cortical focus” and Western blotting analysis showed detectable level of $Ca_{v3.1}$ protein with increasing of protein density for more than 50% in WAG/Rij rats. We hypothesize possible unknown T-type channel function in neuron cytoplasm. More accurate experiments of subcellular protein localization should be done to test this hypothesis.

DIVERSE EFFECT OF POLYSIALYLATION ON NEURONAL PLASTICITY IN RAT HIPPOCAMPUS

Savrasova A., Isaev D., Isaeva O.

savrasova10@gmail.com

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv

Polysialic acids (PSA) are widely distributed in neuronal tissue. Due to their external position on the outer cell membranes and anionic nature, PSA are involved in a multiple cell signaling events. The level of sialylation is regulated by endogenous neuraminidase (NEU). Using the specific blocker of NEU – NADNA we show that downregulation of NEU activity causes a significant increase in the level of hippocampal tissue sialylation. In our previous report we showed that polysialylation of membrane surface affect neuronal excitability by increasing the probability of inducing seizures and aggravating hippocampal seizures *in vivo*; enhancing neuronal synchronization and inducing population burst events of rat hippocampal CA3. In the present work we investigated effect of blockage of endogenous NEU on synaptic plasticity in different regions of hippocampus and on E-S (EPSP-spike) coupling. Temporal lobe slices were prepared from Wistar rats aged postnatal day 19-21. Evoked synaptic responses were elicited through a bipolar electrode placed in the Schaffer collateral-commissural pathway. Extracellular recordings were obtained simultaneously from pyramidal cell layer and stratum radiatum CA1 regions. We examined the effect of bath application of NADNA on synaptic plasticity in cellular and dendritic layers of hippocampus. Analyzing mean and peak values of fEPSP (field excitatory posttetanic potentiation) and pop-spikes (PS) in control and NADNA-treated slices, we observed significant increase of both values. Blockade of NEU leads to significant increase of different types of STP (short-term plasticity) in PS without changes in STP of fEPSP. In contrast probability to evoke LTP of EPSP or PS in NADNA treated slices significantly decrease comparatively to controls. To evaluate effect of NEU blockade on E-S coupling we estimate relative increase in PS and EPSP amplitude depending on stimulus intensity before and after induction of LTP. We show that NADNA-treatment lead to decrease in E-S coupling comparatively to control slices. Also in contrast to control slices where LTP lead to E-S potentiation, in NADNA-treated slices we observed E-S depression after LTP. Our findings demonstrate that NEU-blockage produce diverse effect of neuronal plasticity in rat hippocampus.

ОСОБЛИВОСТІ СУМАЦІЇ ЦЕНТРАЛЬНИХ МОТОРНИХ КОМАНД У “ДВОСУГЛОБОВИХ” ІЗОМЕТРИЧНИХ ЗУСИЛЛЯХ РУКИ ЛЮДИНИ

Верещака І. В.

inna.v@biph.kiev.ua

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Вивчали особливості суперпозиції центральних моторних команд (ЦМК), які надходять до м'язів плечового поясу та плеча при створенні передпліччям ізометричних зусиль у трьох напрямках, один з яких є векторною сумою двох інших. Амплітуди випрямлених, підданих низькочастотній фільтрації та усереднених записів ЕМГ розглядалися як кореляти інтенсивності ЦМК, які надходять до відповідних м'язів. Розвиток зусиль здійснювався у горизонтальній площині операційного простору при кутах 30° у плечовому суглобі, та 90° – у ліктьовому. Обстежуваний відтворював еталонне зусилля, відстежуючи положення маркера силового та командного сигналу на моніторі комп'ютера. Останній складався з трьох елементів: початкового стаціонарного стану, лінійного наростання зусилля та кінцевого стаціонарного рівня сили. Аналізувалися значення показників ЕМГ тільки останньої стадії. Для оцінки наявності суперпозиції ЦМК оцінювалась різниця між середніми рівнями ЕМГ при реалізації двох складових і результуючого зусиль. Амплітуди першого та третього тест-зусилля (складові зусилля) становили 30 Н, а друге (результуюче) тест-зусилля – 42,4 Н. Нормування всіх ЕМГ-сигналів проводилося відносно відповідної активності м'язів при їх максимальному напруженні людиною. Отримані результати свідчать про те, що програми як “збігаючих” (зусилля, спрямовані на одночасне розгинання або згинання обох суглобів) так і “незбігаючих” (зусилля, спрямовані на згинання ліктьового та розгинання плечового суглобів і навпаки) ізометричних скорочень у цілому можуть добре описуватися сумою відповідних ЕМГ досліджуваних м'язів. Виявлено особливості коактивації м'язів, згинаючих і розгинаючих ліктьовий і плечовий суглоби: під час розвитку зусилля, які спрямовані у напрямку розгинання обох суглобів, спостерігається значна коактивація флексорних м'язів ліктя та плеча у той час як активність екстензорів в умовах згинаючих зусиль була незначною.

ВПЛИВ ТРИВАЛОСТІ КУЛЬТИВУВАННЯ НА ВЛАСТИВОСТІ ГАНГЛІОЗНИХ КЛІТИН СІТКІВКИ ЩУРА

Думанська Г. В., Пурнинь О.Е., Рихальський О. В., Веселовський М.С.

Doomanya@mail.ru

Інститут фізіології імені О.О.Богомольця НАН України, Київ

У нервовому апараті зорової системи сітківка відіграє роль периферичного відділу. Гангліозні клітини сітківки (ГКС) передають зібрану інформацію у відповідні центри головного мозку і тому є принципово важливим об'єктом досліджень зорового аналізатора. Нами розроблена методика довготривалого культивування дисоційованих клітин сітківки. Щурів лінії Вістар віком 1-4 доби після народження декапітували, виділяли сітківку та проводили ферментативну обробку, після чого клітини обережно розділяли за допомогою багаторазового пропускання через Пастерівські піпетки різного діаметра. Культивували клітини в чашках Петрі на покривних скельцях, попередньо оброблених поліорнітином, в атмосфері інкубатора з контрольованим вмістом двоокису вуглецю. Електрофізіологічні характеристики культивованих ГКС щура (від 11 до 41 діб культивування) досліджено за допомогою методу patch-clamp у конфігурації “ціла клітина” в режимах фіксації струму та фіксації потенціалу. ГКС відбирали за такими показниками: діаметр семи нейрона та здатність підтримувати електричну активність у відповідь на зростаючі, деполяризуючі поштовхи струму. Досліджуючи залежність параметрів спонтанної активності від тривалості культивування були отримані такі результати: в режимі фіксації струму зі збільшенням віку культивованих клітин локальні відповіді переростали в потенціали дії з частотою, що зростала з часом культивування; в режимі фіксації потенціалу змінювався розподіл постсинаптичних струмів за амплітудою. Експерименти також показали, що відповіді культивованих гангліозних клітин на деполяризуючі поштовхи струму залежали від тривалості культивування та поділялися на три групи. Клітини однієї групи генерували поодинокі потенціали дії (ПД), другої – показали швидку адаптацію, а третьої – генерували ПД протягом усієї тривалості стимулу. Наявність такої залежності узгоджується з даними, отриманими іншими дослідниками в умовах гострого експерименту. Зважаючи на отримані результати можна сказати, що за цих умов культивування гангліозні клітини є життєздатними з адекватними фізіологічними показниками і можуть бути використані для фармакологічних та електрофізіологічних досліджень.

ОСОБЛИВОСТІ МІЖПІВКУЛЕВОЇ АСИМЕТРІЇ ВИКЛИКАНИХ ПОТЕНЦІАЛІВ КОРИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ В ПРАВО- ТА ЛІВОРУКИХ ОСІБ ЖІНОЧОЇ СТАТІ ПІД ЧАС ДІЇ ЗОРОВИХ СТИМУЛІВ РІЗНОЇ ЗНАЧИМОСТІ

Качинська Т. В., Абрамчук О. М.

kachynska_t@ukr.net

Волинський національний університет імені Лесі Українки, Луцьк

Метою дослідження було вивчення особливостей міжпівкулевої асиметрії викликаних потенціалів (ВП) кори головного мозку в право- та ліворуких осіб під час диференційованої фотостимуляції. Обстежено 40 осіб жіночої статі віком 16-17 років, поділених на: ліво- та праворуких. Реєстрація ВП здійснювалася за загальноприйнятою методикою електроенцефалографії. Вивчення когнітивних ВП проводилося під час фотостимуляції; фотостимуляції та ведення підрахунку значимих стимулів (у співвідношенні значимі/незначимі – 50/50 та 25/75). Фотостимуляція здійснювалась у вигляді спалахів світла, очі обстежуваних були заплюснені. Подавалося 100 стимулів: значимі – спалахи тривалістю 117 мс, які обстежуваний повинен був рахувати і незначимі – тривалістю 47 мс. Аналіз показників ВП кори головного мозку показав, що незалежно від тестової ситуації і типу мануальної асиметрії дівчат, швидше сприйняття та обробка інформації здійснювалися лівою півкулею при вищій активації – правої. Під час фотостимуляції у праворуких дівчат на всіх етапах перцептивного акту коротші пікові латентності (ПЛ) зафіксовано в лівих скроневій і тім'яній ділянках. Пік P0 характеризувався достовірно вищими амплітудами у правій лобовій та центральній ділянках, а P2 та N4 – скроневій ділянці цієї самої півкулі порівняно з лівою. Під час підрахунку значимих стимулів різної ймовірності подачі на етапі сенсорного аналізу достовірно вищі ПЛ відмічено в лобовій ділянці лівої півкулі порівняно з правою. У процесі диференційованої фотостимуляції (50/50 та 25/75), у межах задньоасоціативних відведень, ліва скронева ділянка на відміну від правої характеризувалася швидшим сприйняттям та обробкою інформації різної значимості. У ліворуких дівчат незалежно від тестової ситуації під час всіх етапів перцептивного акту достовірно коротші ПЛ зафіксовано у лобовій і скроневій ділянках лівої півкулі порівняно з правою. Вищі активаційні процеси були відмічені у передньо- та задньоасоціативних відведеннях правої півкулі, про що свідчать більші значення амплітуд позитивних і негативних компонентів ВП у цих ділянках.

ВПЛИВ β 2-АГОНІСТА МЕТАПРОТЕРЕНОЛУ НА ГАМКЕРГІЧНУ ПЕРЕДАЧУ В ЗОНІ CA1 ГІПОКАМПА ЩУРІВ *IN VITRO*

Кравченко О.Д., Романько А.В., Розумна Н.М.

nata_nr@biph.kiev.ua

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

З використанням позаклітинного відведення ортодромних популяційних розрядів (ОПР) у зоні CA1 гіпокампа щурів *in vitro* досліджували вплив агоніста β 2-адренорецепторів метапротеренолу (МПТ) на ГАМК-ергічну передачу. Ізольована аплікація 10 ммоль/л ГАМК або 10 мкмоль/л баклофену, агоніста ГАМКВ-рецепторів, викликала пригнічення ОПР, відведених від пірамідального шару даної зони гіпокампа після електричної стимуляції колатералей Шаффера в радіальному шарі. Одночасна аплікація ГАМК і 150 мкмоль/л МПТ у більшості випадків (13 з 19 експериментів) перешкождала прояву повного гальмівного ефекту ГАМК (амплітуда викликаних відповідей знижувалася меншою мірою). Одночасна аплікація МПТ і баклофену в усіх випадках також помітно перешкождала прояву гальмівного впливу останнього на ОПР пірамідальних нейронів: відносна інтенсивність пригнічення в цих умовах протягом 2 хв аплікації була вірогідно менше, ніж при ізольованій дії баклофену. При аплікації 10 мкмоль/л бікукуліну, антагоніста ГАМКА-рецепторів, у викликаній відповіді з'являлися додаткові спайки (два, а іноді три). Амплітуда перших ОПР у комплексі викликаної відповіді на 2-й хвилині аплікації збільшувалася вірогідно на 30% і такий збуджуючий ефект зберігався декілька хвилин під час відмивання. Амплітуда другого ОПР достовірно збільшувалася в 2–3 рази. Відновлення наставало з 30-ї хвилини відмивання і пізніше. При комплексній аплікації МПТ і бікукуліну ефект останнього зберігався, а в деяких випадках навіть зростав. Амплітуда другого ОПР достовірно збільшувалася вдвічі. Відновлення перших ОПР викликаної відповіді відбувалося швидше порівняно з ізольованою дією бікукуліну, приблизно з 15-ї хвилини відмивання. Таким чином, β 2-агоністи можуть пригнічувати ГАМКВ-ергічну гальмівну передачу в зоні CA1 гіпокампа. Цей ефект дає змогу зробити припущення про характер дії норадреналіну, як і інших

ендогенних нейротрансмітерів, на гальмівні нейронні мережі в гіпокампі, які задіяні в процесах пам'яті, уваги, емоцій, а також в патогенезі хвороби Альцгеймера, шизофренії, епілепсії. Вплив β 2-агоністів на гальмівну передачу через ГАМКА-рецептори потребує подальших досліджень.

РОЛЬ ФАКТОРІВ, ІНДУКОВАНИХ ГІПОКСІЄЮ, У НЕЙРОПРОТЕКТОРНИХ МЕХАНІЗМАХ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ІШЕМІЧНОГО УШКОДЖЕННЯ НА КУЛЬТИВОВАНИХ ЗРІЗАХ ГІПОКАМПА

Майстренко А.М., Лушнікова І.В., Орловський М. О., Досенко В.Є., Скібо Г.Г.
sayra@yandex.ru

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ

Відомо, що нестача кисню та глюкози призводить до системних змін у клітинах та активації механізмів ендогенної нейропротекції, які пов'язані з численними внутрішньоклітинними сигнальними молекулами, в тому числі з тими, що активуються гіпоксією (HIF, hypoxia-inducible factor). Киснева аноксія чи епізодичне гіпоксичне прекодиціювання сприяє резистентності мозку до наступної тривалої ішемії. Досить мало відомо про події, що вкладаються в часові рамки між аноксичним прекодиціюванням (АПК) і наступним формуванням резистентності до ішемії. Праці з цієї теми в основному фокусують свою увагу на морфологічних змінах, спричинених АПК, зокрема інгібування апоптозу нейронів, нейрогенез чи здатність до виживання нейронів. Даних щодо ролі HIF в нейропротекторній дії АПК немає. В нашій роботі за допомогою ПЛР-аналізу було оцінено зміни експресії HIF-1 α та HIF-3 α мРНК при АПК, КГД та їх комбінації АПК і КГД у СА1- та СА3-зоні культивованих зрізів гіпокампа. Було виявлено, що за нормальних умов експресія HIF-1 α мРНК (субодинація гіпоксіяіндукованого фактора) більш виражена у нейронах СА1-зони гіпокампальної органотипової культури. Відносно вищий рівень експресії HIF-1 α мРНК у цій зоні корелює з більшою чутливістю пірамідних нейронів до нестачі кисню та глюкози. Ми також перевірили вплив інгібування HIF проліл-гідроксилази попередньою 30-хвилинною обробкою діетиловим ефіром 2,4-піридиндикарбоксильної кислоти перед киснево-глюкозною депривацією. Було встановлено, що ушкодження нейронів, викликані останньою, супроводжуються значним зниженням HIF-1 α та HIF-3 α мРНК в СА1-, але не СА3-зоні нейронів. Лише АПК не впливає на життєздатність клітин і рівні мРНК HIF, але у разі застосування перед киснево-глюкозною депривацією запобігає пошкодженню нейронів і супресії експресії субодинаць HIF-1 α та HIF-3 α мРНК. Було також встановлено, що вплив інгібітора проліл-гідроксилази був схожим на АПК. Ці результати показують, що попередня гіпоксія збільшує протиішемічну стійкість нейронів, яка певною мірою корелює зі змінами експресії HIF-1 α та HIF-3 α .

МОДУЛЯЦІЯ ГАЛЬМІВНОЇ ПЕРЕДАЧІ У МОТОРНІЙ КОРИ ПРИ ВИКОНАННІ РЕФЛЕКСУ НА КОМПЛЕКС ПОДРАЗНИКІВ

Мамонтов С.М.

mamont@ua.fm

Інститут фізіології ім.О.О. Богомольця НАН України, Київ

На ненаркотизованих котах досліджували вплив ГАМК-ергічних речовин і норадренергічних модулаторів на імпульсну активність нейронів моторної кори мозку під час здійснення оперантного рухового рефлексу на комплекс подразників. Досліджували роль різних рецепторів у модулюванні нейронів імпульсної активності (ІА). Використовували неселективні та селективні блокатори та агоністи ГАМК- та норадренергічних рецепторів. Було з'ясовано, що мікроінофоретичні аплікації ГАМК та норадреналіну викликають зменшення ІА кортикальних нейронів. При застосуванні селективних адреноактивних речовин було з'ясовано, що аплікації α 1-агоніста, мезатону, викликають пригнічення імпульсної активності у фоні, у період між стимулами, а також під час здійснення руху. Вплив α 2-блокатора, іохімбіну, викликав протилежний ефект – ІА нейрона підвищувалась порівняно з фоном, а також у інші досліджувані часові інтервали. Цей факт свідчить про складні механізми утворення гальмування ІА кортикальних нейронів у період очікування імперативного стимулу. Є підстави припускати, що норадренергічна модуляція впливає на кортикальні нейрони як прямо, так і через ГАМК-ергічні інтернейрони кори.

ЗМІНИ В θ -ДІАПАЗОНІ ЕЕГ ПРИ СПРИЙНЯТТІ ТА ВІДТВОРЕННІ РИТМІЧНИХ ПАТЕРНІВ З РІЗНОЮ ВИСОТНІСТЮ У ЖІНОК

Павлович О. С.

pos-bio@mail.ru

Волинський національний університет імені Лесі Українки, Луцьк

Обстежили 50 осіб жіночої статі з правобічним профілем слухової та мануальної асиметрії. Усі жінки не мали спеціальної музичної підготовки та ніколи не навчалися грі на музичних інструментах. Показником інформаційних процесів вважали θ -активність ЕЕГ у стані функціонального спокою, під час слухового сприйняття й мануального відтворення ритмічних рівно- та звуковисотних патернів окремо правою та лівою руками. Рівновисотні патерни створювали за допомогою звукових стимулів барабанного бою, а звуковисотні методом накладання електронної версії фортепіано на відповідні звуки барабану (програмне забезпечення Finale-2006). Ритмічний рисунок патернів складався з одиночних та здвоєних стимулів у послідовності – / / / / / . Звуки подавали бінаурально на відстані 1,2 м від кожного вуха обстежуваної з середньою гучністю до 55 дБ. Під час однієї проби транслювали патерни тільки одного типу, завдання виконували (відбивали) пальцями кисті окремо правою та лівою руками. Значимість результатів визначали за критерієм t Стьюдента. Встановили, що при сприйнятті та відтворенні рівновисотних патернів як правою, так і лівою руками зростала потужність θ -ритму ЕЕГ у передніх лобних і правих бічних лобних відведеннях порівняно зі станом функціонального спокою. Сприйняття та відтворення звуковисотних патернів правою рукою супроводжувалося підвищенням потужності в передніх лобних ділянках і зниженням у правому скроневому, тім'яному та потиличних відділах. Означені зміни в θ -діапазоні ЕЕГ відмітили, також, при відтворенні звуковисотних патернів лівою рукою, проте зниження потужності набуло більш локального характеру в лівих тім'яних і потиличних ділянках. Зростання θ -активності ЕЕГ у лобному відділі є проявом підвищеної активації кори великих півкуль, що, очевидно, пов'язано з залученням селективної уваги та кодуванням у пам'яті нової інформації для її наступного відтворення. Зниження потужності θ -ритму ЕЕГ при виконанні звуковисотних завдань у жінок, можливо, вказує на різні механізми сприйняття та відтворення ритмічних патернів з різною висотністю звуку.

УТВОРЕННЯ СИНАПТИЧНИХ ЗВ'ЯЗКІВ НЕЙРОНАМИ ПЕРВИННОЇ КУЛЬТУРИ ВЕРХНІХ ШИЙНИХ ГАНГЛІВ

Телька М.В., Рихальський О.В., Пурнинь О.Е., Веселовський М.С.

mariyka.t@gmail.com

Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця

Мета роботи – отримання первинної культури симпатичних нейронів і дослідження електрофізіологічними методами утворення синаптичних зв'язків. Експерименти проводили на дисоційованих нейронах верхнього шийного ганглія (ВШГ), які культивувалися протягом трьох тижнів. Культивування нейронів здійснювали за методикою, яка описана в роботах Хігінса. Ця методика дає змогу спостерігати розвиток нейронів за наявності всіх клітин ВШГ. При культивуванні симпатичних клітин для розвитку аксонів і підтримуванні синаптичних контактів потрібно додавати фактор росту нервової тканини, який у нативних клітинах виділяється з органів-мішеней. Електрофізіологічні дослідження проводили із застосуванням методу patch-clamp у конфігурації “ціла клітина”. Для виявлення синаптичних зв'язків застосовували метод зовнішньоклітинної фокальної електричної стимуляції. Були виміряні пасивні характеристики (мембранний потенціал, опір та ємність) клітин, які були електророзбудливими. В деяких нейронах зареєстровано фонову електричну активність та викликані постсинаптичні струми, що пригнічувалися дією бензогексонія.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ДЕТЕЙ ИЗ ПРОМЫШЛЕННЫХ РЕГИОНОВ УКРАИНЫ

Тымченко С.Л., Негериш А.В.

ribga@mail.ru

Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», Симферополь

В системе оценки изменения показателей здоровья под влиянием факторов окружающей среды при проведении биомониторинговых исследований особое место отводится анализу состояния систем регуляции и выявлению функциональных отклонений в состоянии здоровья детского населения. Однако особенности вегетативной регуляции в зависимости от элементного баланса в настоящее время изучены недостаточно. Одним из неинвазивных методов, позволяющих объективно оценить данные особенности является метод анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР). С этой целью было обследовано 60 детей от 10 до 16 лет (40 мальчиков и 20 девочек) из промышленных городов юго-восточной Украины, находившихся на санаторно-курортном лечении в детском неврологическом санатории «Искра», г. Евпатория. Методом рентгено-флуоресцентной спектрофотометрии в пробах волос обнаружен дефицит Zn и Cu ($79,31 \pm 3,56$ и $5,40$ мкг/г $\pm 0,25$ мкг/г) на фоне избытка Ca, Pb и Cd ($879,18 \pm 35,50$; $8,98 \pm 1,92$ и $2,57$ мкг/г $\pm 0,45$ мкг/г соответственно). Регистрацию спектральных параметров ВСР (TP, VLF, LF, HF, LF/HF, LFn и HFn) осуществляли в течение 5 мин в состоянии покоя с помощью компьютерного электрокардиографического комплекса (Cardio, Украина). Влияние элементов на ВСР анализировали методом множественной регрессии, который выявил наличие статистически значимой взаимосвязи для ряда элементов ($\pm 0,27 < \beta < \pm 0,77$; $P < 0,05$). Характер выявленных достоверных корреляционных связей позволяет заключить, что повышенное содержание токсичных свинца и кадмия на фоне дефицита эссенциальных цинка и меди может способствовать разнонаправленным изменениям активности вегетативной нервной системы (повышение активности симпатического отдела и снижение активности парасимпатического отдела ВНС) на фоне снижения общей мощности спектра и её отдельных составляющих.

ХАРАКТЕР ВЛИЯНИЯ СИСТЕМНОГО ВВЕДЕНИЯ ПРЕДШЕСТВЕННИКА СЕРОТОНИНА L-ТРИПТОФАНА НА ВРЕМЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОВЕДЕНИЯ В ТЕСТЕ ПОРСОЛТА

Фролова Г.А.

gljukkk@ukr.net

Донецкий национальный университет

Целью представленного фрагмента комплексной работы является установление влияния системного введения L-триптофана на временные характеристики поведения в тесте Порсолта. Исследования проводились на 40 беспородных белых крысах-самцах массой $190 \text{ г} \pm 10 \text{ г}$. Поведенческими показателями в тесте Порсолта (6 мин) служили: частота и длительность периодов полной неподвижности, сгруппированных по стандартным временным диапазонам; суммарное время пассивного и активного плавания. После контрольного тестирования исходная группа крыс была разделена на подгруппы с разным уровнем депрессивности. L-триптофан вводили в дозе 100 мг/кг на протяжении 14 сут (внутрибрюшинно). Для оценки достоверности отличий между опытными и контрольными значениями использовался U-критерий Манна-Уитни. Установлено, что во всех подгруппах крыс наблюдается увеличение суммарного времени активного плавания в среднем на 16-30% и снижение общего времени пассивного плавания ($P < 0,05$) в зависимости от исходного уровня депрессивности крыс: чем ниже депрессивность, тем в большей степени сократилось суммарное время пассивного плавания. Аналогично, выявлена зависимость между исходным значением маркерного показателя в тесте Порсолта – общего времени неподвижности – и степенью его снижения после введения L-триптофана: чем ниже значение этого показателя в контроле, тем в меньшей степени он снижался после инъекций: достоверных отличий у крыс с исходно низким уровнем депрессивности по данному показателю установлено не было; у животных с исходно средним и высоким уровнем депрессивности значения данного показателя снизились соответственно на 25,3 ($P < 0,01$) и 38,7%. Общее количество периодов неподвижности возросло ($P < 0,05$) у низко-

депрессивных крыс, а у высокодепрессивных – сократилось ($P < 0,05$). При рассмотрении динамики замираний по временным диапазонам установлено, что количество периодов неподвижности длительностью до 6 с возросло ($P < 0,05$) только у животных из подгруппы с исходно средним уровнем депрессивности; количество замираний длительностью от 6 до 18 с и от 18 до 36 с достоверно изменилось (сократилось, $P < 0,05$) в подгруппах со средним и высоким уровнем депрессивности; замирания длительностью более 36 с отсутствовали как в контрольных опытах, так и после инъекций предшественника синтеза серотонина L-триптофана.

ПЕРЕБУДОВИ ЕЕГ ЛЮДИНИ ПРИ ВИКОНАННІ ДІЯЛЬНОСТІ З РІЗНИМ СТУПЕНЕМ ІНФОРМАЦІЙНОЇ НАСИЧЕНОСТІ

Чернінський А. О., Крижановський С. А., Зима І. Г., Макачук М. Ю.

psylab@psylab.kiev.ua

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Досліджували взаємозв'язок вихідних (фонових) значень спектральної потужності ЕЕГ людини та змін цього показника при виконанні функціональних проб з різним рівнем інформаційної насиченості: усний арифметичний рахунок, запам'ятовування слів, сприйняття ольфактивного подразника, виконання простої аудіомоторної реакції, часткова сенсорна депривація. Було виявлено, що між параметрами фонові ЕЕГ спокою та реактивними змінами ЕЕГ існує певний зв'язок, ступінь і характер якого залежить від типу діяльності людини. Підвищення складності завдання супроводжується зменшенням кількості кореляційних зв'язків між досліджуваними показниками, що розцінюється нами як зменшення впливу вихідного функціонального стану головного мозку на характер перебудов електричної активності при переході до діяльності. При цьому параметрами фонові ЕЕГ, з якими було зареєстровано найбільшу кількість значущих коефіцієнтів кореляції, є спектральна потужність низькочастотних компонентів (4-10 Гц). Саме ці частоти розглядаються нами як корелят функціонального стану головного мозку. У разі, коли експериментальна проба була пов'язана з переходом не на більш високий рівень активації (аудіомоторна реакція, арифметичний рахунок, запам'ятовування), а з його зниженням (сенсорна депривація), показниками, які визначають функціональний стан головного мозку, були високочастотні компоненти (11-25 Гц). Порівнюючи патерни кореляційних зв'язків досліджуваних параметрів у трьох пробах із подібними реактивними перебудовами ЕЕГ (сенсорна депривація, запам'ятовування, сприйняття ольфактивного подразника), але різною якісно та кількісно інформаційною насиченістю, виявили, що кількість і напрямок взаємозв'язків у них суттєво відрізняється. Отримані результати обговорюються з точки зору визначення електроенцефалографічного субстрату організації функціональних станів головного мозку людини. Сукупність отриманих нами результатів свідчить, що традиційне уявлення про функціональний стан як однокомпонентну систему, яка регулює рівень активації головного мозку у лінійному континуумі "сон-неспання" є не зовсім адекватним. Різні типи діяльності залежать від вихідного рівня функціонування різних підсистем головного мозку.

ЗМІНИ РІВНЯ ЕКСПРЕСІЇ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ Т-ТИПУ У ЛАТЕРАЛЬНО-ДОРСАЛЬНОМУ ЯДРІ ТАЛАМУСА У НОРМІ ТА ЗА УМОВ АБСАНС-ЕПІЛЕПСІЇ

Шаропов Б.Р., Болдирев О.І., Батюк М.Ю., Штефан Н.Л., Шуба Я.М.

sartorius@email.ua

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ

Найтипівішим епілептичним синдромом серед хворих, молодших за 15-16 років, є дитяча абсанс-епілепсія, яка характеризується безсудомними, але дуже частими (15–150 за добу) нападами, що на ЕЕГ супроводжуються комплексами пік-хвиля частотою 3-4 Гц. В останнє десятиріччя були отримані дані щодо ключової ролі таламокортикальної сигналізації і, зокрема, експресованих у таламусі кальцієвих каналів Т-типу у патогенезі цього захворювання. Ми порівняли рівень експресії Т-каналів у латерально-дорсальному ядрі таламуса у моделі дитячої абсанс-епілепсії – шурів лінії WAG/Rij – та у контрольних шурів лінії Вістар віком 10 та 25 діб. Отримані нами методом кількісної ЗТ ПЛР дані свідчать, що за абсанс-епілепсії у латерально-дорсальному ядрі 25-добових тварин спостерігається зниження кількості Т-каналів типів Cav3.1 та Cav3.3 на 68 та 48% відповідно, в той час як рівень експресії Cav3.2 лишається незмінним. У 10-добових шурів різниця між

дослідною та контрольною групою була суттєво менше виражена і в проведених нами досі дослідних не сягла статистичної значущості. Електрофізіологічне вимірювання методом patch-clamp у конфігурації “ціла клітина” показало, що 10-добові щури зі спонтанною абсанс-епілепсією мають знижену на 43% щільність Т-струмів у таламокортикальних нейронах латерально-дорсального ядра. Цікаво, що абсанс-епілепсія іншими дослідниками зазвичай пов’язується з підвищенням рівня експресії Т-каналів у релейних ядрах таламуса. У зв’язку з цим ми припускаємо два можливих пояснення отриманих нами результатів. По-перше, ми могли спостерігати компенсаторний ефект, і зниження експресії Т-каналів у латерально-дорсальному ядрі у 10- та 25-добових щурів змінюється на підвищення при досягненні твариною 3-місячного віку, за якого у щурів лінії WAG/Rij починаються спонтанні абсанси. По-друге, зміна рівня експресії кальцієвих каналів Т-типу у релейних ядрах таламуса за умов абсанс-епілепсії може відбуватись у різних напрямках – як зниження (у випадку латерально-дорсального ядра), так і підвищення (у деяких ядрах, досліджених іншими авторами).

ФІЗІОЛОГІЯ ВІСЦЕРАЛЬНИХ СИСТЕМ

MATURE TO IMMATURE MICRORNAS RATIO IN CULTURED RAT CARDIOMYOCYTES UNDER ANOXIA-REOXYGENATION

Gurianova V.L., Dosenko V.E., Story D.O., Surova O.V.
nika.biph@gmail.com

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv

The violent evolution of knowledge concerning RNA interference phenomenon has become from its discovery to its application as therapeutics strategy in some fields of medicine which became possible due to obtained information about the changes of microRNAs (miRs) expression in experimental models of diseases. Such progress is also very perspective for cardiology, therefore understanding of involvement of miR into intimate mechanisms underlying pathogenesis of heart disease is of great interest. Observations. We have evaluated the changes of mature and immature miR-1, -208a, and -29a in rat neonatal cardiomyocytes culture under under anoxia-reoxygenation (AR), using Real-Time PCR. The different directions and extents of changes for mature and immature miRs that are reflected by the mature to immature miRs ratio have attracted our attention. It was significantly increased upon AR (0.5 hour/1 hour) for miR-1 and -208a, returning to control level at AR group (0.5 hour/24 hours), while for miR-29a this ratio had the progressive tendency to decrease under AR. Coefficient of determination $R^{2</sup>2</sup>$ was used to evaluate the degree of dependence of m miR from level of its immature forms. For miR-1 this parameter decreased from 59.2% in control to 26.4% at AR (0.5/1) and to 5.1% at AR (0.5/24). For miR-208a it is close to such for miR-1 - 60.6%, and decreases to 0.2% in AR (0.5/1) group but returns to the control level upon AR (0.5/24). The same situation is observed for miR-29a: even though initial $R^{2</sup>2</sup>$ for this miR is much lower than for miR-1 and miR-208a (39.8%), it has similar to miR-208a pattern of changes - it decreases to 18.3% at AR (0.5/1) and comes back to control level in AR (0.5/24) group. Conclusions. Discrepancy between level of mature and immature miRs is peculiar to cardiomyocytes under AR, reflecting in changes of mature to immature miRs ratio and of dependence of mature on immature miRs level. It supports the idea that posttranscriptional regulatory mechanisms of miRs level may play the role in response of cardiomyocytes to AR.

ГИПЕРТОНИЯ И СИСТЕМНЫЙ ИММУНИТЕТ

Ал-Хашими Саад Халаф Тамир, Шейко В.И.

interliycin@mail.ru

Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко

В современном обществе одно из лидирующих мест среди болезней принадлежит гипертонии различной степени, при этом отмечается ее «омоложение». Регуляция кровяного давления это одна из вегетативных функций организма, к которым также относятся и иммунные реакции. Одним из перспективных и пока недостаточно разработанных направлений современной биологии и медицины является изучение состояния системного иммунитета в условиях гипертонической болезни различного генезиса и степени. Что возможно дополнит теории иммунорегуляции функций организма. Цель исследования – изучить особенности иммунитета при гипертонической болезни. Исследование проводилось на базе 5-й многопрофильной больницы г. Луганска. Было обследовано 120 пациентов в возрасте от 25 до 55 лет с диагнозом гипертоническая болезнь. Использовали следующие методики: определяли общее количество лейкоцитов в периферической крови, вычисляли лейкоцитарную формулу, общее и относительное количество моноцитов, нейтрофилов, общее и относительное количество Т-лимфоцитов всех их субпопуляций, В-лимфоцитов, естественных киллеров, концентрацию иммуноглобулинов классов Ig A, Ig M, Ig G и концентрацию ЦИК в сыворотке крови. У больных гипертонией наблюдалось снижение фагоцитарной активности нейтрофилов на 6%, уменьшение количества Т-лимфоцитов (CD3⁺) на 9%, за счет уменьшения количества Т-хелперов/индукторов и цитотоксических Т-супрессоров, но при этом увеличивалось число В-лимфоцитов на 15%, а также имела тенденция к повышению концентрации Ig A и ЦИК. Таким образом, гипертония сопровождается дисфункцией системного иммунитета, снижением количества Т-лимфоцитов и увеличением В-лимфоцитов.

ЦИТОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЛЕЙКОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ В УМОВАХ СЛУХОВОЇ ДЕПРИВАЦІЇ

Бесчасний С.П.

Beschasniu@yandex.ru

Херсонський державний університет

Існує значна кількість досліджень про зв'язок нервової та імунної систем за різних умов, зокрема, при слуховій депривації (СД). Частина авторів вказує на те, що при СД спостерігається функціональна незрілість систем, відповідальних за генерацію електричної активності головного мозку (ГМ), зміни діяльності верхньооливкового комплексу, розвиток у нейронах кори ГМ гальмівних фазових станів. Компенсаторно відбувається підсилення зорової та пропріоцептивної сенсорної імпульсації, що підвищує рівень моторної активності і тону ерготропної системи, яка запускає стресорну гіперсимпатикотонічну вегетативну реактивність (ГСВР). Як наслідок ГСВР відбуваються пристосувальні реакції обміну: підвищується вміст лактату, лактатдегідрогенази, пірувату, сукцинатдегідрогенази у крові, гіперактивація перекисного окиснення ліпідів. Вищезазначені явища також пов'язані з активністю імунної системи. Відомо, що у дітей із СД виявлена надмірна продукція антитіл, сенсibiliзованих Т-кілерів до мієліну, активованих В-клітин (при зменшенні їх загальної кількості), нейроспецифічної ендолази, фактора некрозу пухлин, ІЛ-1, лейкоцитарної еластази на фоні недостатності процесів фагоцитозу та зниженні кількості Т-хелперів. Тому є актуальним вивчення лейкоцитів, як одного із показників активності імунної системи при деприваційних впливах. Досліджувалася периферична кров дітей віком від 6 до 11 років із СД (як природна модель дистресових впливів нервової системи на ферментну активність лейкоцитів). Виявлено, що при стандартній лейкоформулі (свідчення відсутності патологічних станів) статистично достовірно знижений вміст мієлопероксидази (МПО), вміст катіонних білків (КБ) і фосfolіпідів (ФЛ) на фоні підвищення вмісту лужної фосфатази (ЛФ) нейтрофілів. Ми припускаємо, що зменшення МПО та КБ (фагоцитин, лейкоцитин, дефензини, лактоферини) вказує на зниження антимікробної активності нейтрофілів. Зниження вмісту ФЛ, які є важливою частиною клітинної мембрани, матриксу, можуть витрачатися під час збільшення попередньої активації МПО. При цьому, активність ЛФ вказує на активні процеси внутрішньоклітинної передачі сигналів з мембранних рецепторів, що можливо через вплив гормональних факторів на В2-адренорецептори (підтверджується підвищенням вмісту ЛФ при збільшенні гормонального гіпофізарно-наднирковозалозного впливу).

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ОБСЛЕДУЕМЫХ В ВОСТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ВЕЛОЭРГОМЕТРИЧЕСКОЙ ПРОБЫ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ УПРАВЛЯЕМОГО ДЫХАНИЯ С ИНДИВИДУАЛЬНО ПОДОБРАННОЙ ЧАСТОТОЙ

Бирюкова Е.А.

biotema@rambler.ru

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь

Исследовано влияние управляемого дыхания (УД), частота которого соответствует таковой локализации максимального пика мощности в низкочастотном диапазоне спектра сердечного ритма (СР) на изменения показателей вариабельности сердечного ритма (ВСР) в процессе восстановления после субмаксимального нагрузочного тестирования и их зависимость от типа вегетативной регуляции обследуемых. В исследовании принимали участие 24 условно здоровых студента-волонтера, разделенных на 3 группы по 8 человек в каждой: I – со средними значениями стресс-индекса ($50 \leq Si \leq 200$ усл.ед.); II – с низкими значениями ($Si \leq 50$ усл.ед.); III – с высокими значениями ($Si \geq 200$ усл.ед.). В первый день исследования показатели ВСР регистрировали с помощью программно-аппаратного комплекса «Омега-М» проводили на фоне спонтанного дыхания. Затем проводили велоэргометрическую (ВЭМ) пробу и повторную регистрацию показателей ВСР в течение 30 мин (6 записей по 5 мин) восстановительного периода. В последующие 10 дней эксперимента ежедневно в одно и то же время с обследуемыми проводили сеансы УД. На 10-й день повторно выполняли пробу ВЭМ и 30-минутную регистрацию показателей ВСР. Показано, что превентивное воздействие УД с индивидуально подобранной частотой (ИПЧ) приводит к повышению скорости восстановительных процессов, увеличению вагусных воздействий и оптимизации барорефлекторной регуляции, большей активации вегетативного контура регуляции СР после субмакс-

симальной физической нагрузки, что свидетельствует об оптимизации функционального состояния, увеличении адаптивных возможностей организма и толерантности к физической нагрузке организма обследуемых. Вместе с тем выявлены индивидуальные различия в реакции на УДИПЧ у людей с разным тоном ВНС. Так, в большей степени восстановление изученных показателей ВСР происходило у обследуемых с высокими значениями Si, характеризующихся симпатическим типом вегетативной регуляции.

РОЛЬ ЕНДОТЕЛІУ У МЕХАНІЗМІ СКОРОТЛИВИХ РЕАКЦІЙ ВОРІТНОЇ ВЕНИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПІД ДІЄЮ СЕРОТОНІНУ

Виноградова О.О., Пасічніченко О.М., Янчук П.І.

alenska_vinogradova@ukr.net

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

Відомо, що серотонін має виражений звужуючий вплив на судини печінки. Літературні дані вказують на те, що його дія на ворітну вену (ВВ) опосередковується через специфічні рецептори, локалізовані на гладеньком'язових клітинах (ГМК). Проте існують дані про ендотеліозалежний вплив серотоніну на судини басейну ВВ. Експерименти були проведені на 20 ізольованих і перфузованих підігрітим розчином Тіроде препаратів ВВ білих безпорідних щурів. Вихідний пасивний натяг судини становив 10 мН. Скоротливі реакції ВВ реєстрували з використанням тензометричної установки. У першій серії дослідів вивчали вплив серотоніну на тонус ГМК препаратів ВВ з цілісним ендотелієм. Серотонін у концентрації 0,01 мкмоль/л, що є близькою до фізіологічної, викликав зниження тонусу ВВ на 0,13[0,13; 0,14]мН (n=10) відносно вихідного рівня. Реакція розвивалася протягом 10 хв з моменту початку перфузії судинних препаратів розчином серотоніну. У другій серії експериментів вивчали вплив серотоніну (0,01 мкмоль/л) на тонус деендотелізованих ізольованих препаратів ВВ. За таких умов серотонін викликав скорочення м'язових препаратів ВВ з амплітудою 0,3[0,2; 0,3]мН (n=10). Таким чином, вплив серотоніну на тонус ВВ, імовірно, зумовлений активуванням різних підтипів серотонінових рецепторів, розташованих як на ГМК, так і на ендотелії судини. Отримані результати вказують на те, що загальна реакція розслаблення ГМК препаратів ВВ з непошкодженим ендотелієм, індукована серотоніном у фізіологічній концентрації, опосередковується ендотеліоцитами, які виділяють дилататорні фактори, можливо, простагліцині або оксид азоту. Такий ендотеліозалежний дилататорний ефект серотоніну у ВВ, очевидно, перекирає можливе підвищення судинного тонусу внаслідок прямого впливу речовини на ГМК вени.

ВПЛИВ ВІЛОЗЕНУ НА АДАПТАЦІЙНІ РЕЗЕРВИ ОРГАНІЗМУ СПОРТСМЕНІВ

Гужва О.І., Шейко В.І.

interliycin@mail.ru

Луганський національний університет імені Тараса Шевченка

Стійкість до емоційних і фізичних навантажень в умовах сучасного суспільства є однією з найбільш актуальних проблем теперішньої фізіологічної науки. Нині значна увага приділяється вивченню механізмів взаємодії нервової, імунної та ендокринної систем з концептуальних позицій системного підходу на рівні цілісного організму, зокрема, за умов адаптації до фізичних навантажень. Викладене вище свідчить про актуальність проведення наукових досліджень у такому напрямі фізіології, як взаємозв'язки функцій системи імунітету та показники гомеостазу у осіб, які займаються спортом в умовах активації клітинної ланки системного імунітету (імуностимулятором вілозен). Обстежено спортсменів різного рівня підготовки ігрових видів спорту. Використовували такі методики: визначення загальної кількості лейкоцитів у периферійній крові, лейкоцитарної формули, загальної та відносної кількості моноцитів, нейтрофілів, загальної та відносної кількості Т-лімфоцитів усіх їх субпопуляцій, В-лімфоцитів, природних кілерів, концентрацію імуноглобулінів класів Ig A, Ig M, Ig G у сироватці крові; та біохімічні показники крові (білірубін, креатинін, хлор, натрій, калій, загальний білок, сечовина, тимолова проба, АсАТ, АлАТ, α -амілаза та альбумін). Регулярні заняття спортом супроводжуються дисфункцією системного імунітету та негативними змінами показників гомеостазу, що свідчить про порушення та послаблення адаптаційних можливостей і резервів організму. Використання вілозену у спортсменів позитивно впливає на абсолютну та відносну кількість ІКК, що призводить до зростання абсолютної та відносної кількості загального пулу лімфоцитів за раху-

нок CD3⁺-лімфоцитів; абсолютної кількості імунорегуляторних Т-лімфоцитів, а саме: підвищується абсолютна кількість Т-хелперів/індукторів на 37,5 %, цитотоксичних Т-супресорів на 56,52 %. Основні показники клітинної ланки системного імунітету під впливом вілозену покращуються. В гуморальній ланці системного імунітету спостерігалось підвищення абсолютної кількості CD19⁺-лімфоцитів і концентрації Ig G. Активація клітинної ланки системного імунітету супроводжувалася покращенням показників гомеостазу. Таким чином, активація клітинної ланки імунітету у спортсменів носить імунореабілітаційний характер і поліпшує адаптацію.

ЧИ Є „МІТОХОНДРІАЛЬНИЙ ФАКТОР” МАРКЕРОМ УТВОРЕННЯ МІТОХОНДРІАЛЬНИХ ПОР?

Добровольський Ф.В.

f_dobr@biph.kiev.ua

Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ

У процесі пошуку нами нових шляхів корекції реперфузійних пошкоджень міокарда виникла потреба уточнення значення „мітохондріального фактора” (МФ) як маркера утворення мітохондріальних пор (МП). У дослідженні здійснюється перевірка маркерного значення МФ, що вивільняється на початку реперфузії, а також пошук можливого пояснення зв'язку між утворенням МП та вивільненням МФ. Ішемії (20 хв) та наступної реперфузії (40 хв) завдавали ізольованим серцям морських свинок, що перфузувалися за Лангендорфом. Оцінювали показники скоротливої активності (СА) та проводили зіставлення ступеня відновлення СА на реперфузії та кількості МФ, що визначалася спектрофотометрично. В першій з трьох дослідних груп здійснювали контрольну ішемію-реперфузію. В двох інших ішемію-реперфузію поєднували з протективними впливами: охолодженням серця під час ішемії (група 2) та попереднім одноразовим годуванням тварин мелатоніном у дозі 10 мг/кг за 1 год до початку досліду (група 3). Істотніше в порівнянні з контролем відновлення СА на реперфузії в групах 2 і 3 свідчило про значну ефективність протективних впливів, що були використані. При цьому більш повне відновлення спостерігалось в групі 3. Так, на 20-й хвилині реперфузії тиск у лівому шлуночку в групі 1 становив в середньому 65%, а в групах 2 і 3 – 81% від доішемійного рівня (P<0,01). Відповідні значення для роботи серця – 66, 82 і 83% (P<0,01). Для dP/dt_{max} – 65, 84 і 85% (P<0,01), для dP/dt_{min} – 66, 81 і 85% (P<0,01). Кількість МФ в групі 2 була значно нижчою, ніж у контролі (0,047 і 0,183 ум. од. відповідно, P<0,001). В групі 3 вірогідних відмінностей у порівнянні з контролем не було. Додаткове визначення часу (в секундах) від початку ішемії до повного припинення скорочень виявило відсутність вірогідної різниці. Неоднаковий характер змін кількості МФ в умовах різних протективних впливів дає змогу зробити кілька пояснень. Серед них і таке, яке повністю заперечує роль МФ як маркера утворення МП. Таким чином, можна зробити висновок про відсутність наразі достатнього розуміння природи МФ та його зв'язку з утворенням МП. На нашу думку, потрібні подальші дослідження в зазначеному напрямку.

ВПЛИВ СІРКОВОДНЮ НА МІТОХОНДРІАЛЬНЕ ДИХАННЯ СЕРЦЯ ЩУРІВ

Дорофєєва Н.О.

dorofeyva@mail.ru

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Для визначення впливу сірководню в концентрації, близькій до ендогенної, на ефективність дихання і окисного фосфорилування мітохондрій серця щурів *in vivo*, проведені дослідження на щурах зі спонтанною гіпертензією та контрольної групи лінії Вістар. Для дослідження впливу сірководню *in vivo* щурам у свідомості проводили ін'єкцію донора сірководню NaHS у концентрації 56 мкмоль/л (внутрішньоочеревино) та через 30 хв використовували в дослід. Мітохондрії серця щурів виділяли методом диференціального центрифугування. Процеси мітохондріального дихання досліджували за допомогою приладу Оксиграф («Hansatech instruments»). Функціональний стан мітохондрій визначали методом Чанса та Вільямса. Виявлено достовірне підвищення швидкості споживання кисню в станах V2, V3, V4 при дії сірководню *in vivo* у щурів контрольної групи та у тварин зі спонтанною гіпертензією. Проте кратність підвищення була різною. Так, у стані відносного спокою V2 у щурів контрольної групи швидкість споживання кисню збільшилась в 2,7 раза, а у щурів зі спонтанною гіпертензією – в 1,6 раза. АДФ-стимульоване дихання мітохондрій серця у щурів кон-

трольної групи збільшилося в 2,4 раза ($P < 0,01$), а у щурів зі спонтанною гіпертензією – в 1,6 раза ($P < 0,05$). Проте виявлено, що у щурів контрольної групи при впливі сірководню *in vivo* на 29,4% зменшувався дихальний контроль ($P < 0,05$), який відображає ступінь спряження процесів дихання і фосфорилування. А у щурів зі спонтанною гіпертензією не відмічалось достовірного зниження дихального контролю. Таким чином, вплив сірководню на мітохондріальне дихання серця у щурів зі спонтанною гіпертензією та щурів контрольної групи був різний.

ЗАЛЕЖНІСТЬ ЖОВЧОСЕКРЕТОРНОЇ ФУНКЦІЇ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ВІД АКТИВНОСТІ ПАРАСИМПАТИЧНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ

Єсіонова Ю. М., Лященко Т. П., Весельський С. П.

lestat6662008@meta.ua

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Функціонування органів травного тракту залежить від активності різних відділів вегетативної нервової системи. Процеси виділення та утворення жовчі перебувають під переважним впливом парасимпатичного відділу. Функціонування гепатобіліарної системи має певні вікові особливості. Отримані численні дані з цього питання є досить суперечливими, тому це і стало метою наших досліджень. Досліди проводили на білих щурах-самцях трьох вікових груп: ювенільні (130-175 г), зрілі (200-250 г) та старі (300-350 г) в умовах гострого експерименту з відпрепарованою та канюльованою жовчною протокою під тіопенталовим наркозом (5 мг/100 г). Об'ємну швидкість холерезу вимірювали впродовж 3 год досліді і розраховували в нанометрах на 1 г маси тіла тварини за хвилину досліді. У ворітну вену тваринам через катетер вводили атропін з розрахунку 0,15 мг на 100 г. Контрольній групі тварин вводили лише фізіологічний розчин (0,1 мл на 100 г). У контрольних дослідіх спостерігалось поступове зниження рівня холерезу впродовж експерименту, що, безумовно, пов'язане з втратою жовчних кислот (ЖК) як основних саморегуляторів жовчоутворення. Порівняно зі щурами зрілої групи показники жовчної секреції у тварин ювенільної групи характеризуються гіперфункцією, а у щурів старої групи – гіпосекрецією. Застосування універсального блокатора М-холінорецепторів атропіну призводить до лавиноподібного зниження рівня об'ємної швидкості холесекреції у щурів ювенільної групи, менш вираженої холестатичної реакції у старих щурів на фоні практично незмінної жовчосекреторної функції печінки статевозрілих тварин. Виходячи з вищевикладеного можна зробити наступні висновки: 1. Жовчосекреторна функція у ювенільних щурів перебуває в максимальній залежності від активності парасимпатичного відділу автономної нервової системи. 2. У щурів зрілого віку недостатність парасимпатички компенсують паралельні незалежні механізми регуляції. 3. Певна залежність рівня холерезу у щурів старої групи від тону парасимпатичної нервової системи свідчить про можливу вікову атрофію вищезазначених механізмів компенсації.

ВПЛИВ ω -3 ПОЛІЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ НА СТРУКТУРНІ ЗМІНИ КОНЕКСИНУ-43 ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ

Жуковська А.С.¹, Шиш А. М.¹, Бенюва Т.², Трібулова Н.², Мойбенко О.О.¹

a.zhukovska@gmail.com

¹ *Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ,*

² *Institute for Heart Research, Slovak Academy of Sciences, Bratislava*

Конексини - це сарколемальні білки, які, згруповуючись, утворюють напівканал конексон. У щільних контактах шлуночка серця експресується переважно конексин-43, який є головним у передачі електричного сигналу по серцю. Порушення функції щільних контактів призводить до погіршення серцевої провідності, водночас відомо про пошкодження серцевої провідності при діабеті. З іншого боку є відомості, що ω -3 поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) покращують функціонування серця за умов різноманітної патології серцево-судинної системи. Таким чином, нами було поставлено за мету дослідити вплив ω -3 ПНЖК на структурні зміни конексину-43 у «діабетичному» серці. Для досліді використано самців щурів, яких розподілено на 3 групи: 1 – контроль, 2 – щури зі стрептозотоциніндукованим (50 мг/кг) цукровим діабетом (ЦД), 3 – щури зі стрептозотоциніндукованим ЦД, які протягом 4 тиж отримували ω -3 ПНЖК (0,1 мл/100 г за добу). Виявлено, що за

допомогою ω -3 ПНЖК відбувається модифікація жирнокислотного складу клітинних мембран серця. За результатами імунофлуоресцентного аналізу при ЦД спостерігається порушення розподілу, дезорганізація і латералізація конексину-43, збільшення числа імунореактивних його частинок у вставних дисках порівняно з контролем. Отримання щурами ω -3 ПНЖК сприяло нормалізації розподілу конексину-43 при експериментальному ЦД, а число імунореактивних його частинок наблизилося до контрольних значень. Отже, вживання ω -3 ПНЖК покращує структурні зміни конексину-43, викликані ЦД, і може бути корисним у зниженні ризику серцево-судинних ускладнень за цієї патології.

ЭФФЕКТЫ ДЕГАЗАЦИИ КРОВИ IN VITRO

Зинченко А.А.

alinazina@gmail.com

Донецкий национальный университет

Содержание растворенного в крови воздуха *in vivo* может меняться под действием внешних физических факторов таких, например, как давление, ультразвуковые или электромагнитные поля. В настоящей работе исследованы биологические эффекты дегазации крови *in vitro*, с целью выявить влияние растворенного воздуха на функционирование форменных элементов крови и установить сопутствующие дегазации изменения показателей крови. Дегазация проводилась методом центрифугирования образцов крови или плазмы, для чего предварительно были получены градуировочные кривые, связывающие продолжительность центрифугирования со степенью дегазации. Показано, что последняя немонотонно влияет на скорость оседания эритроцитов (СОЭ) и что эти изменения обусловлены, в первую очередь, дегазацией плазмы и адсорбцией микропузырьков воздуха на мембранах эритроцитов. Затем определялась концентрация глюкозы в плазме с различным содержанием растворенного воздуха, а также в самих эритроцитах, инкубированных в плазме после центрифугирования. Показано, что после 10 мин центрифугирования (согласно стандартной методике) содержание глюкозы в плазме снижается на 10%, увеличение продолжительности либо повторное центрифугирование выводит этот показатель за границы нормы для здоровых людей, а для больных сахарным диабетом – переводит в норму. При этом содержание гликозилированного гемоглобина (HbA1c) изменяется немонотонно с увеличением времени обработки плазмы как больных людей, так и здоровых. Исследование динамики свертывания плазмы показало, что активность свертывающей системы зависит от концентрации растворенного в плазме воздуха немонотонно. С ростом дегазации время свертывания по внутреннему пути резко растет, а по внешнему – падает. При этом увеличивается активность ионов кальция, инициирующих свертывание. После насыщения образцов плазмы воздухом активность протромбиназы возвращалась к исходному значению. При дегазации сыворотки крови наблюдается увеличение доли липидной части в β -липопротеидах. С ростом времени центрифугирования существенно уменьшается число лейкоцитов и увеличивается рН спинномозговой жидкости. Таким образом, неконтролируемое насыщение воздухом или дегазация крови может приводить к искажению результатов анализов и, как следствие, к некачественной диагностике.

ВПЛИВ ВЕГЕТАТИВНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ НА ЖОВЧОУТВОРЮВАЛЬНУ ФУНКЦІЮ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ

Калашник Г.В., Лященко Т.П., Весельський С.П.

gal4enok28@ukr.net

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Інтенсивність жовчосекреторної функції печінки та склад жовчі змінюється під впливом регуляторних факторів, в тому числі й автономної нервової системи. Встановлено, що подразнення парасимпатичних нервів посилює рівень холерезу та виділення з жовчю органічних компонентів, а симпатичних – послаблює. Однак проблема статевих особливостей впливу вегетативної нервової системи на жовчосекреторну функцію печінки щурів залишається маловирішеною, що і стало метою нашої роботи. Дослідження проводили на білих нелінійних щурах обох статей масою 200-250 г з відпрепарованою і канюльованою жовчною протокою під тіопенталовим наркозом (5 мг/100 г). Як блокатор М-холінорецепторів парасимпатичної нервової системи використовували атропін (0,15 мг/100

г, внутрішньоортально), симпатичної нервової системи – лабеталол (0,07 мг/100 г, внутрішньоортально). Визначення вмісту жовчних кислот (ЖК) проводили за методикою Весельського С.П. та співробітників (1991). Наші дослідження показали, що в контрольних групах рівень холерезу та вміст ЖК у секреті були більшими у самців. Після введення атропіну статистично значущі відмінності між рівнями холерезу самців і самиць зникають, але у самиць об'ємна швидкість холесекреції змінюється незначно, а у самців – знижується. Дебіт ЖК у жовчі самиць після введення атропіну статистично значущо вищий за такий у самців. Тобто блокада М-холінорецепторів призводить до зниження рівня холесекреції та виведення з секретом ЖК у самців та збільшення вмісту холатів у жовчі без змін у холерезі самиць. Під впливом лабеталола рівень холерезу зростає у самців та не змінюється у самиць. Дебіт ЖК у секреті самців після застосування лабеталола був статистично значущо вищим за такий у самиць і самців контрольної групи. Отже, введення неспецифічного блокатора нервової системи супроводжується підвищенням швидкості жовчоутворення та збільшенням дебіту ЖК у жовчі самців, та не викликає суттєвих змін цих показників у самиць. Таким чином, результати нашої роботи свідчать, що активуючий вплив парасимпатичної нервової системи на жовчоутворювальну функцію печінки та холестатичні ефекти симпатичної більш притаманні щурам-самцям. Самиці характеризуються відносною незалежністю від діяльності автономної нервової системи щодо холерезу.

ВПЛИВ ТРИЙОДТИРОНІНУ НА ЛАТЕНТНИЙ ПЕРІОД ЗБУДЖЕННЯ ВЕЛИКОГОМІЛКОВОГО М'ЯЗА БІЛИХ ЩУРІВ (ДОСЛІДЖЕННЯ IN SITU)

Кметко І. Л.

v.sobolev@mail.ru

Донецький національний університет

Важливе значення в регуляції функціонального стану нервово-м'язової системи належить тиреоїдним гормонам. Метою нашої роботи було з'ясування в умовах *in situ* характеру впливу експериментального гіпер- і тиреотоксикозу на тривалість латентного періоду збудження переднього великогомілкового м'яза білих щурів. Експерименти були виконані на 30 білих щурах. У тварин першої групи викликали експериментальний гіпертиреоз підшкірним введенням протягом 4 діб трийодтироніну в дозі 15 мкг/кг. У тварин другої групи викликали експериментальний тиреотоксикоз (4 ін'єкції трийодтироніну в дозі 150 мкг/кг). Третя група була контрольною. Під час дослідження у тварини препарували малогомілковий нерв, який іннервує передній великогомілковий м'яз. У м'яз вводили два голчасті сталеві електроди. У тварин усіх груп вимірювали латентний період збудження м'язового волокна за допомогою реєстрації «М-відповіді» під час поодиноких подразнень нерва електричними імпульсами тривалістю 150 мкс. Для підсилення біопотенціалів застосовувався диференціальний підсилювач з режекторним гіраторним фільтром, цифровий дівайс (цифровий осцилограф TDS2004C з пам'яттю) і комп'ютер. Результати дослідів дали змогу зробити наступні висновки. По-перше, експериментальний гіпертиреоз викликав скорочення латентного періоду збудження м'яза. Так, якщо середнє значення латентного періоду для групи контрольних щурів становило $2,86 \text{ мс} \pm 0,064 \text{ мс}$, то у тварин з експериментальним гіпертиреозом – $1,34 \text{ мс} \pm 0,037 \text{ мс}$, тобто на 53 % менше ($P < 0,001$). По-друге, експериментальний тиреотоксикоз викликав протилежні зміни з боку латентного періоду. Так, час латентного періоду збудження м'яза щурів цієї групи становило $3,71 \text{ мс} \pm 0,083 \text{ мс}$, що було на 29 % менше ($P < 0,001$) за значення у щурів контрольної групи. По-третє, експериментальний гіпер- і тиреотоксикоз «спотворювали» класичний вигляд «М-відповіді». Зокрема, спостерігалось розщеплення як першої, так і другої фази сумарного потенціалу м'яза. Таким чином, експериментальний гіпер- і тиреотоксикоз використаних моделей викликають чіткі зміни з боку фундаментальної константи нервово-м'язової системи – латентного періоду збудження м'язових волокон моторної одиниці.

**ВПЛИВ АЗИТРОМІЦИНУ НА ТРАНСПОРТ ВОДИ ТА ЕЛЕКТРОЛІТІВ
ЧЕРЕЗ ЕПІТЕЛІЙ ТОВСТОЇ КИШКИ ЩУРІВ****Козьякова М., Довбинчук Т., Закордонець Л.¹, Толстанова Г.****Maria_Koziakova@ukr.net***Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ¹Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Київ*

Механізми побічної дії антибіотиків на функціонування шлунково-кишкового тракту є недостатньо вивченими. Питання набуває ще більшого значення у зв'язку з виявленням не-антибактеріальної активності у багатьох групах антибіотиків, особливо макролідів (вплив на моторну функцію кишечника, секрецію кислоти шлунком, пригнічення експресії цитокінів еозинофілами тощо). Встановлено безпосередній вплив макролідів на механізми транспорту іонів через епітелій дихальних шляхів. Метою нашої роботи було з'ясувати механізми побічної дії тривалого застосування азитроміцину на транспорт води та електролітів через епітелій товстої кишки. Дослідження проведені на щурах-самцях лінії Вістар (180-230 г). Азитроміцин (15 мг/кг, reg.os.) вводили щодня протягом 5 діб. На 6-ту добу вимірювали сумарний потік води та електролітів (Na, K, Cl) методом перфузії ізольованої ділянки кишечника *in vivo* на анестезованих щурах. Вміст малонового діальдегіду, активність каталази та супероксиддисмутази в слизовій товстої кишки визначали відповідно колориметричним аналізом і методом електрофорезу. Жирно-кислотний спектр ліпідів крові вимірювали методом газорідинної хроматографії. Визначали кількісний та якісний склад мікрофлори фекалій. Слід відмітити, що введення азитроміцину призводило до вірогідного збільшення всмоктування води (2,5 раза, $P < 0,001$), натрію (1,7 раза, $P < 0,001$), хлору (1,3 раза, $P < 0,05$) і зниження секреції калію ($P < 0,05$). Цей ефект корелював з двократним посиленням росту епідермального стафілокока, стрептококів та кандіди. У рівні біфідо- та лактобактерій змін не спостерігалось. Виявлено збільшення активності каталази ($P < 0,01$) та супероксиддисмутази ($P < 0,05$) в слизовій оболонці товстої кишки щурів після введення азитроміцину. Вміст малонового діальдегіду (показник інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів) залишався без змін. Введення азитроміцину не впливало на вміст поліненасичених і ненасичених жирних кислот у крові щурів. Таким чином, азитроміцин впливає на показники сумарного транспорту води та електролітів Na, K та Cl через епітелій товстої кишки щурів; тривале введення азитроміцину посилює ріст патогенної мікрофлори, що може бути причиною розвитку оксидативного стресу в слизовій оболонці товстої кишки.

**ВПЛИВ ЦИТИДИН-5'-ДИФОСФОХОЛІНУ НА ГЕМОДИНАМІКУ
У МАЛОМУ КОЛІ КРОВООБІГУ У ЩУРІВ****Лук'янчук А.П., Стрелков Є.В.****alinaluk17@mail.ru***Державна установа «Інститут фармакології та токсикології АМН України», Київ*

Цитидин-5'-дифосфохолін (ЦДФ-холін) – кон'югат нуклеотиду з холіном, є в усіх клітинах організму. Він широко використовується як ефективний фармакологічний препарат, який має нейропротекторні, мембраностабілізуючі та антиоксидантні властивості. Проте ефекти ЦДФ-холіну та його метаболітів на серцево-судинну систему мало досліджені. Метою нашої роботи було оцінити вплив ЦДФ-холіну на стан гемодинаміки у малому колі кровообігу. Дослідження проводили на дорослих білих щурах-самцях середньою масою $254 \text{ г} \pm 20 \text{ г}$ під хлоралозо-уретановим наркозом (внутрішньоочередово, 1:10, 40 г уретану на 100 г). У тварин вимірювали тиск крові у правому шлуночку серця та у лівій загальній сонній артерії, реєстрували електрокардіограму. Початковий середній артеріальний тиск (САТ) становив ($114,7 \pm 10,2$) мм рт. ст., а систолічний тиск у правому шлуночку (сТПШ) – ($27,4 \pm 2,1$) мм рт. ст. Внутрішньовенне введення ЦДФ-холіну у дозі 100 мг/кг призводило до розвитку легеневої гіпертензії, а також супроводжувалося транзиторним підвищенням системного артеріального тиску. Протягом перших 3 хв після введення сТПШ підвищувався на 40 % (до $38,4 \pm 3,9$) мм рт. ст. ($n = 10$; $P < 0,05$). Надалі він поступово знижувався і на 20-й хвилині спостереження був ($34,6 \pm 3,5$) мм рт.ст., що на 26 % вище від початкового рівня ($P < 0,05$). Час дії ЦДФ-холіну був приблизно 60 хв. Максимальне значення САТ реєструвалося протягом першої хвилини і було на 18 % вище від вихідного значення – ($135,5 \pm 6,5$) мм рт. ст. ($n = 10$; $P < 0,05$). Приблизно через 5-7 хв після введення САТ нормалізувався і надалі знижувався до ($109,2 \pm 13,2$) мм рт. ст. на 20-й хвилині ($P > 0,05$). Вплив ЦДФ-холіну на роботу серця був несуттєвим: спосте-

рігалося невелике зменшення частоти серцевих скорочень (з $296,5 \pm 35,8$ до $273,6 \text{ с}^{-1} \pm 36,2 \text{ с}^{-1}$, $P < 0,05$) та скорочення інтервалу QTc (з $176,5 \pm 24,7$ до $163,3 \text{ мс} \pm 23,7 \text{ мс}$, $P > 0,05$). Отже, дія ЦДФ-холіну викликає виражену легеневу гіпертензію тривалістю приблизно 60 хв, але істотно не впливає на роботу серця та системну гемодинаміку. Механізми впливу ЦДФ-холіну на стан гемодинаміки у малому колі кровообігу потребують подальшого дослідження.

БІОХІМІЧНІ ТА ЕЛЕКТРОЛІТИЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ В УМОВАХ АКТИВАЦІЇ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ

Львов О.С., Шейко В.І.

lvov.as@mail.ru

Луганський національний університет імені Тараса Шевченка

Згідно з теорією імунорегулюючих функцій організму можна припустити, що імунокомпетентні клітини мають значний вплив на формування гомеостазу і тим самим впливають на показники електролітів. У свою чергу показники гомеостазу характеризують стан окремих органів та систем. Враховуючи все вищевикладене, метою нашої роботи стало вивчення показників гомеостазу, а саме біохімічних та електролітичних констант, в умовах активації неспецифічної ланки імунітету. Дослідження на статевозрілих кролях проводили на базі кафедри анатомії і фізіології людини та тварин Луганського національного університету імені Тараса Шевченка і на базі біохімічної лабораторії реанімації Луганської обласної дитячої клінічної лікарні. Використовували такі методики: визначення загальної кількості лейкоцитів у периферичній крові, лейкоцитарної формули, загальної та відносної кількості моноцитів, нейтрофілів, загальної та відносної кількості Т-лімфоцитів усіх їх субпопуляцій, В-лімфоцитів, природних кілерів, концентрацію імуноглобулінів класів Ig A, Ig M, Ig G у сироватці крові; та біохімічні показники крові (білірубін, креатинін, хлор, натрій, калій, загальний білок, сечовина, тимолова проба, АсАТ, АлАТ, α -амілаза та альбумін). Як імуностимулятор використовували тимоген, протягом 3 діб. Для тимогену викликала зменшення загальної кількості Т-лімфоцитів, за рахунок всіх їх субпопуляцій, незначне зростання числа В-лімфоцитів, але при цьому спостерігалось збільшення загальної кількості лейкоцитів внаслідок зростання кількості моноцитів і нейтрофілів. Слід відмітити також збільшення концентрації креатиніну в сироватці периферичної крові, що вказує на функціональне навантаження на печінку. Інші біохімічні показники крові, які ми досліджували, не відрізнялися від вихідних значень. Встановлено, що активація неспецифічного антиінфекційного захисту організму не викликала ніяких змін показників електролітів периферичної крові. Таким чином, неспецифічний антиінфекційний захист організму має мінімальний вплив на показники гомеостазу.

КЛІТИННІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ ПЕПТИДОГЛІКАНУ ЗОЛОТИСТОГО СТАФІЛОКОКА НА СКОРОЧЕННЯ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ МАТКИ ЕСТРОГЕНІЗОВАНИХ ЩУРІВ

Насібян Л.С., Філіппов І.Б.

lilit_nasib@mail.ru

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Патогенність стафілокока зумовлена його здатністю виділяти в навколишнє середовище під час росту і руйнування клітинної стінки біологічно активні полімери – пептидоглікан, ліпoteйхоєві кислоти, білок А. Останні стимулюють розвиток типового запального процесу, призводячи до порушення функціонування органів або тканин. Скорочення гладеньких м'язів матки контролюється гормонами яєчників і змінюється протягом менструального циклу, виконуючи не тільки трофічну функцію, але й є необхідною умовою для нормального перебігу процесів запліднення і настання вагітності. Зміна скоротливості невагітної матки під дією бактеріальних ендотоксинів спричинює порушення цих фізіологічних процесів. Метою нашої роботи було вивчення клітинних механізмів дії компонента клітинної стінки золотистого стафілокока пептидоглікану на скорочення гладеньких м'язів матки естрогенізованих щурів. Прикладання пептидоглікану в максимальній ефективній концентрації (3 мкг / мл) призводить до збільшення амплітуди спонтанних скорочень в середньому на 30%, тривалості одиночного фазного скорочення – на 40% та індексу скоротливості ($CI = F_{max} \cdot (+ dF / dt) : -dF / dt$) – на 73% відносно контролю. Дослідження показали, що в основі дії пептидоглікану

на гладенькі м'язи міометрія знаходиться його здатність активувати утворення медіатора запалення – фактора активації тромбоцитів. Останній ініціює активацію не тільки фосфоінозитидного сигнального шляху, а й таких регуляторних протеїнкіназ, як фосфатидилінозитол-3-кінази, екстрацелюлярної сигналрегульованої кінази 1 / 2 (ЕРК S) і р38 мітогенактивованої протеїнкінази (р38 МАК). Сигнальні шляхи ЕРК S і р38 МАК мають домінуюче значення у потенціюванні скорочувальної активності гладеньких м'язів міометрія щурів під дією пептидоглікану. Таким чином, в основі посилення скоротливості гладеньких м'язів міометрія пептидогліканом знаходиться його здатність генерувати утворення фактора активації тромбоцитів і залучення множинних внутрішньоклітинних сигнальних шляхів.

СТРЕСІНДУКОВАНІ ПОРУШЕННЯ ТРАНСПОРТУ ТА УТИЛІЗАЦІЇ КИСНЮ В ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА ЩУРІВ

Опанасенко Г.В.

nosar@biph.kiev.ua

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Розповсюдженість захворювань пародонта в осіб молодого віку, різноманітність етіологічних факторів, недостатня з'ясованість патогенетичних ланок пошкодження, недосконалість первинної та вторинної профілактики захворювань зумовлює актуальність проведення подальших досліджень у цих напрямках. Серед основних ризик-факторів ушкодження тканин пародонта є стрес, але при цьому залишаються недостатніми киснезалежні механізми стресіндукованих пошкоджень м'язових і твердих тканин. Метою нашої роботи було дослідження показників транспорту та утилізації кисню в тканинах пародонта щурів при хронічному іммобілізаційному стресі та вплив на ці параметри тіотриазоліну - препарату з антиоксидантною дією. Робота проведена на 20 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200г. Стрес відтворювали розміщенням тварин в індивідуальних тисних пеналах, які забезпечували суворе горизонтальне їх положення, по 6 год щоденно протягом 14 діб. Контролем були інтактні тварини. Ефективність експериментального відтворення стресу при хронічній іммобілізації щурів оцінювали за зміною маси надниркових залоз і тимуса, наявністю виразок на слизовій оболонці шлунка. Для визначення напруження кисню (P_{O_2}) в м'язих тканинах пародонта та швидкості поглинання O_2 кістковою тканиною альвеолярного відростка нижньої щелепи щурів використані полярографічні методи дослідження. Показано, що хронічна іммобілізація тварин призводить до зниження P_{O_2} в яснах вірогідно щодо контролю (на 30%). Швидкість поглинання кисню кістковою тканиною пародонта у стресованих щурів знижується на 47% в порівнянні з контролем. У групі тварин, яким перед щоденною іммобілізацією вводився внутрішньом'язово розчин тіотриазоліну (50 мг на 1кг маси тіла), P_{O_2} знижувався на 18%, а швидкість поглинання кисню на 28% в порівнянні з контрольними значеннями, тобто відбувалося покращення умов транспорту та утилізації кисню в тканинах пародонта.

ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ У АУТОФАГІЧНИХ КАРДІОМІОЦИТАХ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ МЕТОДИКИ SINGLE-CELL RT-PCR У РЕАЛЬНОМУ ЧАСІ

Пашевін Д.О., Гур'янова В.Л., Тумановська Л.В., Досенко В.Є., Мойбенко О.О.

Den-win@ukr.net

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Відомо, що за умов патологічних впливів у клітинах поряд з некротичною загибеллю можуть реалізуватися процеси апоптозу та аутофагії. Як на клітинному, так і на тканинному рівнях перебіг патологічного процесу багато в чому буде залежати від того, який шлях загибелі переважатиме. Нині внутрішньоклітинні механізми реалізації клітинної загибелі вивчені недостатньо, а одночасна наявність різних видів загибелі в популяції клітин за однакових умов дає змогу зробити припущення про наявність генетичних чинників у реалізації цих процесів. Основною метою нашої роботи було дослідження відмінностей у експресії генів, що відіграють важливу роль у розвитку аутофагії – генів mTOR (від англ. mammalian target of rapamycin) та убіквітину. Досліди проведені на первинній культурі кардіоміоцитів щура. Наявність аутофагії визначалася суправітальним забарвленням флуоресцентним барвником монодансилкадаверином (специфічно забарвлює аутофагічні вакуолі). Окремі клітини з культури забирали за допомогою скляної мікропіпетки (D=4-5 мкм). З застосуванням набору Taq Man Fast Cells-to-Ct проводили зворотну транскрипцію з використан-

ням рендомного гексамерного праймера. Отриману одноланцюгову ДНК використовували для полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі за допомогою технології SYBR Green. Рівень експресії генів убіквітину та mTOR стандартизували за експресією house-keeping гена (β -актин). Було встановлено наявність відмінностей в експресії генів убіквітину та mTOR у контрольних клітинах та клітинах з ознаками аутофагії. Зокрема, рівень експресії гена убіквітину в аутофагічних клітинах був меншим у 5,66 рази ($P=0,04$) у порівнянні з контролем. Рівень експресії гена mTOR був вищим у аутофагічних клітинах (в 1,43 рази порівняно з контролем, $P>0,05$). Отримані результати дають змогу стверджувати, що розвиток аутофагії залежить від вихідного рівня експресії генів, що зумовлює гетерогенність популяції культивованих кардіоцитів.

МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ СІРКОВОДНЮ НА КАЛЬЦІЙІНДУКОВАНЕ ВІДКРИВАННЯ МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ПОРИ У СЕРЦІ ДОРОСЛИХ І СТАРИХ ЩУРІВ

**Семеніхіна О.М., Струтинська Н.А., Чорна С.В., Вавілова Г.Л., Сагач В.Ф.
veritatemsplendor@i.ua**

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Останнім часом з'явилися нові дані, які дають можливість розглядати сірководень, як новий газовий трансмітер. Проте його фізіологічна роль у серцево-судинній системі та механізми дії ще не з'ясовані. Метою нашої роботи було вивчення впливу донора сірководню гідросульфиду натрію (NaHS), а також субстрату його біосинтезу – L-цистеїну на чутливість мітохондріальної пори (МП) до природного індуктора її відкриття Ca^{2+} у серці дорослих і старих щурів. Експерименти проводили на ізольованих мітохондріях, з тканин серця дорослих і старих щурів. Відкриття МП реєстрували спектрофотометрично ($\lambda=520$ нм). Досліджували вплив NaHS у діапазоні концентрацій 10^{-12} - 10^{-4} моль/л на кальційіндуковане набухання мітохондрій серця дорослих і старих щурів. У межах концентрацій NaHS 10^{-6} - 10^{-4} моль/л спостерігали дозозалежне зменшення набухання як у дорослих, так і у старих щурів, що свідчить про захисний ефект сірководню щодо відкриття МП. Преінкубація суспензії мітохондрій серця зі специфічним інгібітором мітохондріальних K_{ATP} -каналів 5-гідроксидеканоатом (10^{-4} моль/л) спричиняла послаблення протекторного ефекту NaHS (10^{-5} моль/л) щодо кальційіндукованого відкриття МП, що свідчить про можливе залучення цих каналів до вказаного ефекту. При дослідженні впливу NaHS у межах концентрацій 10^{-12} - 10^{-8} моль/л на набухання ізольованих мітохондрій у безкальцієвому середовищі спостерігали помірне набухання органел серця як у дорослих, так і старих тварин. Показано, що такий ефект певною мірою спричинено активацією мітохондріальних K_{ATP} -каналів щурів. В експериментах при одноразовому введенні щурам NaHS (10^{-4} моль/кг) і L-цистеїну (10^{-3} моль/кг) за годину до декапітації було встановлено зменшення чутливості МП до Ca^{2+} у серці щурів. При цьому дія L-цистеїну виявилась більш ефективною. Використання специфічного блокатора ферменту цистатіонін- γ -ліази – пропаргілліцину у кількості 10^{-4} моль/кг ваги спричиняло підвищення чутливості до кальційіндукованого відкриття МП у серці старих щурів, на відміну від дорослих. Отримані нами результати свідчать про важливу і неоднозначну роль сірководню в модуляції змін проникності мітохондріальних мембран.

ВПЛИВ ДОЗОВАНОЇ НОРМОБАРИЧНОЇ ГІПОКСІЇ НА ЦИТОМОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ДОРОСЛИХ ЩУРІВ

Янко Р.В.

biolag@ukr.net

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Метою проведених досліджень було вивчення впливу дозованої нормобаричної гіпоксії (ДНГ) на функціональну активність паренхіми щитоподібної залози. Дослідження впливу ДНГ здійснювали на 24 щурах-самцях лінії Вістар віком 12 міс. Щурів розділили на 2 групи: I група – контрольні щури та II група – тварини, які щодня отримували ДНГ (10% кисню в азоті) протягом 30 хв. Тривалість експерименту становила 28 діб. По завершенні досліджу з обох часток щитоподібної залози виготовляли гістологічні препарати за стандартною методикою. Проведені дослідження по-

казали, що щитоподібна залоза як контрольних, так і дослідних груп тварин має не змінену будову зі збереженням її основних структурних елементів. Вона містить фолікули овальної та видовженої форми різного розміру. У дослідній групі тварин середня площа поперечного перерізу фолікула була менша від контролю на 10%. У щурів, що зазнавали впливу ДНГ, виявляли тироцити кубічної та призматичної форми з середньою висотою на 20% ($P < 0,05$) більшою від контролю. При цьому внутрішній діаметр фолікула був нижчим від значення контрольної групи на 9%. Колоїд у фолікулах переважно помірної щільності, з добре вираженими резорбційними вакуолями. Площа колоїду менша від контролю на 20% ($P < 0,05$). Кількість тироцитів в одному фолікулі в середньому становила 28. Відмічено зростання фолікулярно-колоїдного індексу (на 28%; $P < 0,05$) та зниження індексу накопичення колоїду (на 25%; $P < 0,05$) у щурів, що зазнавали впливу ДНГ. Отже, зменшення середньої площі поперечного перерізу фолікулів та площі колоїду, збільшення висоти тиреоїдного епітелію та зменшення внутрішнього діаметра фолікулів, наявність в колоїді резорбційних вакуолей, підвищення фолікулярно-колоїдного індексу та зниження індексу накопичення колоїду свідчить про стимулюючий вплив дозованої нормобаричної гіпоксії на функціональну і синтетичну активність щитоподібної залози.