

ОСОБЛИВОСТІ МЕМБРАНОТРОПНОГО ВПЛИВУ НЕЙРОТЕНЗИНУ НА ПЛАЗМАТИЧНІ МЕМБРАНИ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ, ГОДОВАНИХ ОЛІЄЮ АМАРАНТУ, У НОРМІ ТА ЗА УМОВ АДРЕНАЛІН-ІНДУКОВАНОГО СТРЕСУ

О.П.Єлісєєва, Г.В.Островська, Д.В.Камінський,
Х.О.Семен, С.В.Яблонська, І.О.Нектегаєв,
В.К.Рибальченко

*Національний медичний університет
ім.Данила Галицького (Львів)*

Національний університет ім.Тараса Шевченка (Київ)

Вступ

Сучасне інтегративне уявлення про стрес як про стан порушення балансу адаптивних сил організму, який реалізується через комплекс змін координованих біохімічних, нейрональних, гуморальних та клітинних процесів, передбачає тісний взаємозв'язок метаболічного окисного синдрому і зниження стійкості фізіологічних систем організму до впливу різних екстремів. Персистенція окисного стресу (ОС), обумовлена надмірним накопиченням продуктів окисної деструкції і гіпоксією клітин та тканин, є одним із основних патогенетичних механізмів більшості хронічних захворювань, які на сьогодні прийнято відносити до вільнорадикальних [7,18,33,51,64,73,76]. Ефективна корекція ОС можлива за умови помірної стимуляції вільнорадикальних реакцій (ВРР), які індукують інтенсивніші флуктуації ендogenous ксисню, енергопродукуючі та антиокисні функції клітин [36].

Результатом такої адекватної стимуляції є не тільки підтримання кисневого гомеостазу і повніше окиснення продуктів вільнорадикальної деструкції, але й інтенсифікація оновлення мембранних структур, модуляція їх фізико-хімічних властивостей, що забезпечує підвищення стійкості мембран до окисного пошкодження в нових умовах кисневого і енергетично-субстратного забезпечення Система гомеостазу тоді виступає як складна струк-

турно-функціональна організація вишого порядку, для досягнення нового адаптаційного стану якої узгоджено взаємодіють та інтегруються елементи різних ієрархічних рівнів. Так наприклад, процеси оптимізації кардіореспіраторної системи тісно спряжені із механізмами підтримання проокисдантно/антиокисдантної рівноваги на вищому рівні інтенсивності окисно-відновних реакцій [5,6,12,13,36] і регулюються реактивнішою автономною нервовою системою (АНС) із залученням різних нейропептидів, здатних модулювати пейсмейкерну активність клітин синусового вузла і, відповідно, варіабельність ритму серця [22,56]. Регуляторні пептиди (РП), які впливають на ЧСС (через здатність зміщувати локус ведучого пейсмейкерного місця клітин синусового вузла), продукуються нейронами метасимпатичної нервової системи, ендотелієм судин, різними міоцитами, клітинами крові та пухкої сполучної тканини, адипоцитами, апудоцитами, тощо, і через аферентну імпульсацію від хеморецепторів сприяють модуляції адренергічної і холінергічної функції чутливих і рухових нейронів АНС під час безпосереднього контролю клітинних функцій. Окрім того, відомі на сьогодні чисельні РП (вважають, більше 60) є переважно поліфункціональними, приймають участь у регуляції процесів проліферації, диференціації, апоптозу, запалення, імунної відповіді і ефективність взаємодії певних регуляторних субстанцій із мембранними структурами може в значній мірі детермінувати активність цих процесів, а також запобігати, як наслідок, формуванню метаболічного синдрому та надмірного незворотного окисного пошкодження функціонуючих структур.

З іншого боку, модифікація жирнокислотного (ЖК) складу мембран у напрямі підвищення поліненасиченості (збільшення співвідношення $\omega 3/\omega 6$ ЖК) у складі фосфоліпідів (ФЛ) внаслідок активації ВРР змінює фізико-хімічні властивості мембран: підвищує їх проникність і плинність, модулює активність мембранозв'язаних ферментів, механізми іонного транспорту, формування мембранного потенціалу, експресію певних рецепторів на зовнішній поверхні мембран, що також, крім природи самого РП, визначає ефективність його взаємодії і пов'язаних з нею метаболічних перетворень. Помірна активація ВРР також сприяє оптимізації механізмів безрецепторного шляху

взаємодії РП із мембранами із-за модифікації ліпідного матриксу, про що свідчать фундаментальні дослідження проф. Рибальченка В.К. та співавт. [19,23,24,27-32]. Високоюмовірно, що ці механізми лежать в основі формування найефективнішої адаптаційної реакції активації (або прекодиціонування чи гормезису, як на сьогодні частіше зустрічається в літературі), яку можна цілеспрямовано викликати різними стимулюючими засобами метаболічної чи фізичної природи [5,17,33,38,47,50,57,74] і підтримання якої потребує тривалого функціонування помірно активних, незатухаючих, розгалужених ВРР [3,4,10,12,36,66,75]. Ефективними засобами такої цілеспрямованої активації є рослинні олії, мінорні компоненти яких забезпечують їх ω -3 міметичну дію [14,16,40,67,71]. Раніше нами також встановлено підвищення функціонально-метаболічного резерву через формування помірно прооксидантної ситуації і активацію енергетичної функції мітохондрій (МХ) під впливом добавок олії з насіння амаранту (*Amaranthus cruentus* L.) [8,11,34,37,77].

Метою роботи стало поглибле вивчення механізмів впливу олії амаранту (ОАм) на модуляцію фізико-хімічного стану штучних і плазматичних мембран, виділених із гепатоцитів щурів, яким згодували добавки ОАм, у нормі та за умов адреналін-індукованого стресу. Також було вивчено взаємодію плазматичних мембран гепатоцитів щурів різних експериментальних груп з нейротензином (НТ), плейотропні ефекти якого, за сучасними даними, реалізуються через прооксидантні, прозапальні впливи і за умови їх помірної активації здатні індукувати механізми ефективних адаптаційних регенераційних процесів.

Матеріали та методи дослідження

Експерименти проводили на білих безпородних щурах-самцях. Тварини утримувались на стандартному раціоні віварію та були поділені на 4 групи: група 1 - "контроль" (Кр), $n=9$, інтактні тварини на стаціонарному раціоні віварію; група 2 - "амарант" (Ам), $n=8$ - тварини, які до стандартного раціону одержували рег ос концентровану олію з насіння амаранту (ОАм), по 60 мкл/кг, індивідуально, щоденно, один раз на добу протягом місяця; група 3 - "контроль + адреналін" (Кр+Адр), $n=6$ - тварини на стандартному раціоні віварію, яким

вводили інтраперитонеально низькі стресові дози адреналіну (350 мкг/кг маси) за 30 хв. до декапітації; група 4 - "амарант+адреналін" (Ам+Адр), $n=6$, "амарантові" тварини, яким вводили адреналін у тій же дозі в день експерименту. Тварини періодично зважувались для корекції добавок ОАм.

Виділення фракції плазматичних мембран (ПМ) гепатоцитів проводили за методом Song et al., 1969, центрифугуванням (66000g) в градієнті сахарози при температурі 2-4°C. Чистоту фракції ПМ визначали за активністю маркерних ферментів, вміст білку - за методом Lowry et al., 1951, як детально описано в роботі [24].

Ліпідні моношари штучних мембран (сформованих із індивідуальних ФЛ - фосфатидилхоліну (ФХ), фосфатидилсерину (ФС), а також азолектину (АЛ) - (суміш ФЛ, найбільше наближена до складу природних мембран) - формували нанесенням розчинів ліпідів в хлороформі (1мг/мл) на поверхню електроліту (0,01 М КСІ, 0,01 М Трис-НСІ, рН 7,4) в тефлоновій кюветі (130x200x5) до досягнення необхідної величини поверхневого тиску. Моношари природних ліпопротеїнових мембран формували на основі плазматичних мембран (ПМ) гепатоцитів (субфаза - 0,01 М КСІ, 0,01 М Трис-НСІ, рН 6,8, $t=24^{\circ}\text{C}$). Електрична схема установки для вимірювання характеристик моношарів складається з двох функціональних блоків: 1- реєстрації поверхневого тиску (π) і 2- реєстрації граничного стрибка потенціалу (ГСП, $\Delta\phi$). Вимірювання параметрів поверхневої і мембранотропної активності проводили на базі методів Ленгмюра-Вільгельмі в модифікації Невода В.С. та Ксенжека О.С. [23,24], реєстрували поверхневий тиск ($\Delta\pi$) та ГСП ($\Delta\phi$), реєстрацію двох параметрів проводили одночасно. За нульове значення приймали параметри вільної поверхні розподілу фаз електроліт-повітря. Проникнення регуляторного пептиду (РП) нейротензину (НТ) в моношари мембран вимірювали при внесенні в об'єм субфази після досягнення стаціонарного стану ліпідних моношарів. Зміни параметрів системи визначали як різницю між відповідними показниками, що встановились при дії певної концентрації препарату та початковими параметрами. Реєстрували також час стабільного існування мембран (t_{st}). В експерименті формували модельні мембрани з початковими

параметрами $\phi_0 = 155 \pm 10$ мВ та $\pi_0 = 10 \pm 0,6$ мН/м. Такі параметри були обрані як такі, при яких взаємодія НТ з мембранами відбувається найбільш активно [23]. Розраховували значення коефіцієнту розподілу Гіббса (Γ), S_1 - питому площу на 1 молекулу адсорбованої речовини, $C_{\text{мін}}$ - мінімальну діючу концентрацію речовини, $C_{\text{пер}}$ - концентрацію пептиду, у якій відбувається перехід від однієї фази адсорбції до іншої [23,24].

Оцінку аеробного метаболізму проводили за параметрами системи "пероксидне окиснення ліпідів/антиоксидантна активність" (ПОЛ/АОА), як детально описано нами раніше [9,66]. Спектрофотометричними методами у крові визначали активність каталази, супероксиддисмутази (СОД), рівень малонового діальдегіду (МДА), гідропероксидів (ГП), ліпопротеїнів низької густини (β -ЛП) та середньомолекулярних пептидів (СМП), окисномодифікованих білків (ОМБ), інтегральний індекс антиоксидантної активності ІАОА. Також визначали рівень МДА та ОМБ у ПМ, виділених з печінки щурів.

Статистичне опрацювання результатів здійснювали за допомогою програмного забезпечення STATISTICA 6,0. Для оцінювання нормальності розподілу використовували тест Шапіро-Уїлка, для порівняння змінних із нормальним розподілом використовували t-тест для залежних і незалежних змінних. Робота була узгоджена з Етичною комісією Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.

Отримані результати та їх обговорення

Дослідження ефектів олії амаранту на фізико-хімічний стан модельних моношарових мембран.

Ліпідні моношари на поверхні розподілу повітря/вода є простою, чутливою моделлю, що імітує біологічні мембрани і, як показано в багатьох дослідженнях, метод моношарів є адекватним для оцінювання особливостей інкорпорації білків і пептидів в мембрану [15,23,24,42]. Використання модельних моношарових штучних мембран, сформованих на основі індивідуальних фосфоліпідів та азолектину дозволило в певній мірі оцінити особливості взаємодії ОАм з індивідуальними компонентами ліпідного матриксу мембран. По-перше, молекули, які взаємодіють тільки з полярними групами (голівками) ліпідів, типово індукують

мінімальні зміни $\Delta\pi$ або й повну їх відсутність. Однак тоді рееструються зміни (часто значні) у величині граничного стрибка потенціалу ($\Delta\phi$). По-друге, на противагу, вбудовування біологічно активних молекул в гідрофобну зону ліпідного моношару може викликати значне зростання $\Delta\pi$ в моношарі і зміни цього параметру є функцією від концентрації біорегулятора [19,24,31,62].

В роботі встановлено, що компоненти ОАм включаються до складу мембрани, починаючи з розведення в примембранному електроліті 1: 1000000. Інтенсивність модифікації (за значеннями $\Delta\pi$) залежить від ліпідного складу мембрани і може бути охарактеризована рядом: АЛ>ФХ>ФС. Знижена активність вбудовування компонентів ОАм у ФС мембрани, очевидно, пов'язана із високим від'ємним зарядом таких мембран, що перешкоджає інкорпорації молекул - складових ОАм. В той же час, різноманітний склад АЛ мембран сприяє взаємодії різних компонентів ОАм із молекулами мембрани та їх інкорпорації в моношар. Модифіковані ОАм мембрани виявляють підвищену стабільність. Час їх існування у штучних умовах збільшується в декілька разів: якщо немодифіковані ліпідні мембрани існували в системі протягом в середньому 2-2,5 години, то при дії ОАм цей час збільшувався до 6-8 годин, навіть при максимальному (1:1000000) розведенні (рисункі). Цікаво, що інтенсивність інкорпорації компонентів ОАм у гідрофобний матрикс ФХ мембрани значно (на 38%) перевищує таку для ФС мембрани, тоді як період стабільності довший у модифікованої ФС мембрани (на 80%). Враховуючи той факт, що у нормі підтримання мембранного потенціалу і оптимальне функціонування мембран забезпечується асиметричним розподілом ФЛ, причому на зовнішній поверхні мембран локалізується переважно ФХ (стійкіший до окисного деструкції), а на внутрішній - ФС (сильніше залучається до вільнорадикальних перетворень) [1,30,41,73,76], то інтенсивніша взаємодія компонентів ОАм переважно із жирнокислотними залишками ФХ і пролонгація залучення до такої залишків ФС може бути одним із механізмів модифікації жирнокислотного складу (ЖК) мембран під час активації вільнорадикальних реакцій (ВРР). Окрім того, добре відомі факти про антикоагулянтні власти-

вості ФХ та прокоагулянтні ФС, появу значної кількості молекул ФС на зовнішній поверхні мембран, особливо ендотеліоцитів, при надмірному окисному пошкодженні [1,41,48,73,76], вказує на вагому роль модулюючого впливу ОАм у підвищенні антикоагулянтного потенціалу крові і регуляції апоптозу. Ці результати підтверджуються раніше одержаними даними про ω -3 міметичну дію ОАм (здатність підвищувати співвідношення ω -3/ ω -6 поліненасичених жирних кислот (ПНЖК), а саме $C_{20:5}/C_{20:4}$) мембран [14,16]. Оскільки ейкозопентаєнова ЖК ($C_{20:5}$) є джерелом утворення простагліцину I_3 (найсильнішого антиагреганта), а арахідонова ЖК ($C_{20:4}$) - тромбоксану A_2 [20,35,48,68], то модуляція співвідношення цих двох регуляторних простагліцинів може вагомо впливати на агрегаційні властивості крові та інших біологічних рідин. Слід додати, що в попередніх наших дослідженнях також встановлено здатність ОАм активувати аеробний метаболізм, формувати помірну прооксидантну ситуацію і таким чином забезпечувати антиоксидантний ефект та підвищувати функціонально-метаболічний резерв організму [8-10,34,37,66,77]. Тому на наступному етапі досліджень ми вважали доцільним вивчити аналогічні параметри фізико-хімічного стану моношарових ліпопротеїнових мембран, сформованих із плазматичних мембран гепатоцитів щурів, які протягом місяця до стандартного раціону споживали невеликі добавки концентрованої ОАм, а також прослідкувати за зміною цих параметрів мембран у тварин, що піддавались дії стресу (моделивали введенням адреналіну за 30 хвилин до декапітації).

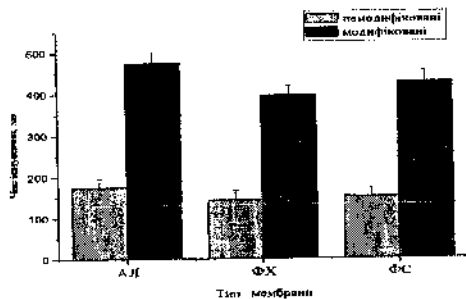


Рис.1. Зміна часу існування модельних моношарових ліпідних мембран - немодифікованих і модифікованих ОАм при розведенні 1:100000.

Вплив ОАм на стабільність мембран гепатоцитів *in vivo*.

Плазматичні мембрани виділялись з клітин печінки різних груп тварин. Спостерігали аналогічні зміни стабільності мембран, хоча різниця часу стабільного існування (t_{st}) ПМ між групами була менш вираженою і не мала достовірного характеру (рисунок 2). Так, t_{st} ПМ, виділених із печінки щурів групи Ам (2), які приймали добавки ОАм, збільшувався на 25 хвилин, порівняно із ПМ тварин, що не приймали таких добавок група Кр (1). Якщо стресова дія адреналіну призвела до зниження t_{st} (на 7,7%), порівняно з контрольною групою, то у групі, яка приймала ОАм і піддавалась дії адреналіну (група 4), показник t_{st} був на 14,5% вищим за значення такого у щурів контрольної групи (група 1).

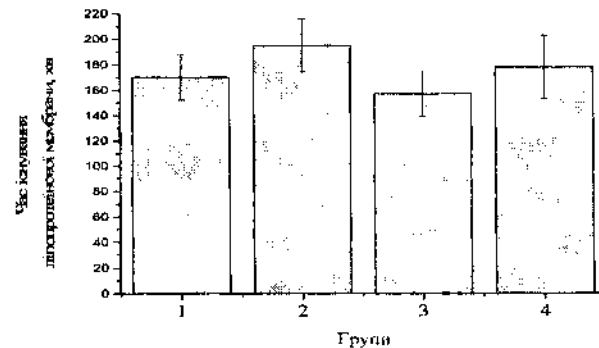


Рис. 2. Час стабільного існування моношарових мембран, сформованих із плазматичних мембран гепатоцитів щурів різних груп (1 - Кр, 2 - Ам, 3 - Кр+Адр, 4 - Ам+Адр).

Цікаво, що рівень продуктів окисної деструкції (МДА та ОМБ), визначений у плазматичних мембранах гепатоцитів щурів різних груп, мав інше спрямування і був найнижчим у контрольній групі (таблиця 1). Достовірно підвищений зміст МДА і ОМБ у ПМ щурів групи Ам (2) ще більше зростає при дії адреналіну у тварин групи Ам+Адр (4), хоча за часом стабільного існування t_{st} ПМ тварини цієї групи перевищували такий для щурів контрольної групи. Ці дані опосередковано також вказують на ознаки помірної прооксидантної ситуації, властивої для впливу ОАм, яка необхідна для формування на рівні організму ефективної реакції

активації (прекондиціонування), пов'язаної із підвищеною стійкістю до окисного стресу [5,17,24,38,47,50,57,74].

Таблиця 1

Вміст МДА та ОМБ у плазматичних мембранах гепатоцитів щурів різних груп $M \pm m$

Показник/Група	Кр (1)	Ам (2)	Кр+Адр (3)	Ам+Адр (4)
МДА, нМоль/мг білка	2,92±0,12	3,22±0,08* [§]	3,66±0,15*	3,91±0,11* [§]
ОМБ, нМоль/мг білка (430 нм) (370 нм)	4,30±0,30	4,42±0,25*	4,88±0,24*	6,9±0,17* ^{§§}
	7,28±0,31	8,34±0,47	9,00±0,55*	10,49±0,48* ^{§§}

Примітка: * - різниця з контрольною групою достовірна, $p < 0,05$; § - різниця з групою Кр+Адр достовірна, $p < 0,05$; §§ - різниця з групою Ам достовірна, $p < 0,05$.

Формування і довготривале підтримання такої адаптаційної реакції передбачає перехід організму на новий стан функціонування систем всіх ієрархічних рівнів, з вищою інтенсивністю окисно-відновних реакцій, ефективнішою функцією мітохондрій, як основи неспецифічної стійкості, з потужнішими і реактивнішими механізмами центральної і автономної нервової регуляції. Вагома роль у цих механізмах належить регуляторним пептидам, які є, переважно, нейропептидами, але виконують функцію і нейротрансмітерів, і ендокринну (ауто/паракринну), мають поліфункціональні ефекти, і, незважаючи на велику кількість робіт за останні роки, на сьогодні вивчені недостатньо [2,19,21,23,24,27,28,30,32,39,43,49,52-54,72,78]. Важливим є подальше вивчення механізмів плейотропного впливу нейротензину, нейротрансмітера і РП ауто/паракринної дії, який взаємодіє з багатьма типами клітин, в т.ч. із гепатоцитами, індукуює механізми сигнальної трансдукції і експресію багатьох цитокінів, виділення якого регулюється також лептином, що зумовлює залучення НТ до регуляції про/антиоксидантної та про/антизапальної систем, процесів апоптозу, проліферації, тощо [23, 31,43,44,49,58,70,72,78,79].

Прояв мембранотропних властивостей нейротензину по відношенню до мембран, модифікованих добавками олії аманта (per os) до корму щурів.

Відомо, що біологічно активні речовини (БАР), в тому числі регуляторні пептиди, здатні здійснювати свої ефекти не тільки

через взаємодію із специфічними білковими мембранними рецепторами, але й безрецепторними шляхами, в яких відбувається прямий вплив біорегулятора на стан ліпідного матриксу (часто - взаємний), або ж концентрування біорегулятора на поверхні мембрани внаслідок його взаємодії з матриксом є попереднім етапом наступної взаємодії з рецепторами [2,21,23,30,55,58,63,65,69,76]. Особливості безрецепторних взаємодій залежать від фізико-хімічної природи діючих речовин і їх здатності проникати в мембрану, з одного боку, і від фізико-хімічних властивостей мембранних ліпідів, з іншого. Ці ефекти є залежними від дози і часу. У більшості в літературі значна увага приділяється в основному мембраноактивним властивостям пептидів антимікробної дії, пептидам, токсичним по відношенню до клітин ссавців, а також РП рецепторної взаємодії. Безрецепторні ефекти РП тривалий час залишались поза належною увагою дослідників. Проте, відому на сьогодні поліфункціональність РП важко пояснити тільки гетерогенністю традиційних рецепторних шляхів.

В 1990-2000-х рр. в широкому циклі робіт, які виконувались під керівництвом проф. Рибальченка В.К. [19,24-32] було продемонстровано особливості взаємодії біорегуляторів пептидної природи і похідних амінокислот з ліпідним матриксом мембран різного складу. Показано, що взаємодія таких біорегуляторів з ліпідними мембранами розпочинається, а в ряді випадків обмежується їх накопиченням в зоні полярних головок ліпідів. Інтенсивність і концентраційні характеристики цього етапу взаємодії пов'язані як з особливостями структури біорегулятора, так і з особливостями модельної мембрани, зокрема складом її полярної зони. Мінімальні діючі концентрації (C_{min}) спостерігаються при взаємодії біорегуляторів з від'ємно зарядженими ФС мембранами. Якщо ж у складі самого біорегулятора присутні від'ємно заряджені групи, одноіменний заряд ФС мембран, навпаки, гальмує їх накопичення на поверхні мембрани. Наявність таких груп знижує мембранотропну активність біорегуляторів і по відношенню до АЛ, який в цілому нейтральний, але містить в своєму складі також ФС і ФЕ. Результати цих досліджень засвідчили, що інкорпорація молекули біорегулятора в гідрофобну зону ліпідного матриксу зумовлює вплив на функціонування мембранних білків

через локальні зміни фізико-хімічного стану ліпідів мембран. Слід додати, особливості таких взаємодій залежатимуть і від функціонального стану клітин і самого організму, зокрема, при апоптозі, онкотрансформації, запальних процесах, менш чи більш виражених проявах метаболічного окисного синдрому.

Крім асиметрії в ліпідному складі між двома моношарами мембран, спостерігається також нерівномірне розташування різних ліпідів в межах одного моношару (утворення доменів) [1,41,45,46,48,55,59,61,76], що також може мати значення для накопичення певного біорегулятора в тій чи іншій зоні мембрани. Однак, найсуттєвіші зміни фізико-хімічного стану самого ліпідного матриксу, а через це - активність мембранних ферментів, транспортних і рецепторних білків, інтерналізації/екстерналізації рецепторів і певних ФЛ по різну сторону мембран відбувається внаслідок вільнорадикальних реакцій, інтенсивність яких, як відомо, тонко регламентується як поліненасиченістю та фосфоліпідним спектром структур ліпідного матриксу, так і активністю аеробного метаболізму та потужністю механізмів генерації ендогенного, метаболічного генезу, кисню, що сприяє підвищенню стресостійкості біосистеми та механізмів саморегуляції [10,32,36]. З цієї причини, ефективність безрецепторної взаємодії РП з мембранними структурами може бути чи не основним механізмом лабільного переключення локальних метаболічних реакцій і клітинних функцій та ефективної оптимізації фізіологічних функцій у відповідь, в т.ч. кардіореспіраторної системи.

Взаємодія нейротензину з модельними моношаровими мембранами, сформованими з плазматичних мембран гепатоцитів щурів різних груп.

Нейротензин знаходиться у різних тканинах, де він залучений у цілий ряд ефектів в центральній і периферичній нервовій системі [39,43,44,49,52-54,58,69,78,79], охарактеризовано також зв'язування нейротензину з плазматичними мембранами печінки щурів [60]. НТ проявляє амфіфільні властивості, які дозволяють його молекулам концентруватися на поверхні розподілу гідروفільної і гідрофобної фаз, взаємодіючи з кожною із них. За своєю амінокислотною послідовністю НТ є тридекапептидом, до складу якого входять амінокислотні залишки з

різними властивостями - як неполярні, що належать до групи найбільш гідрофобних (позначені жирним шрифтом), так і полярні (підкреслені), в т.ч. заряджені (із знаком +), залишок проліну може поводитися і як полярний, і як неполярний, але в складі білків НТ частіше є полярним :

Glu-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys⁺-Pro-Arg⁺-Arg⁺-Pro-Tyr-Ile-Leu.

Завдяки високому ступеню амфіфільності НТ активно взаємодіє з модельними мембранами різного складу і різного функціонального стану і може використовуватись як модельний агент для демонстрації БАР-мембранної взаємодії. Крім того, структуру НТ можна охарактеризувати як таку, яка повинна добре взаємодіяти своєю центральною частиною з гідрофільною зоною полярних головок, тоді як кінцеві ділянки будуть занурюватися в гідрофобну зону ацильних ланцюгів, або згортатися всередину молекули. НТ проявляє незначну власну поверхневу активність і не формує на поверхні субфази суцільних адсорбційних шарів навіть при досить високих концентраціях (10^{-7} - 10^{-6} М), як детально вивчено у роботах [23,24]. В експерименті формували модельні мембрани з початковими параметрами $\varphi_0=155\pm 10$ мВ та $\pi_0=10\pm 0,6$ мН/м. Ці параметри були обрані як такі, при яких взаємодія НТ з мембранами відбувається найбільш активно [23,24]. В результаті наших досліджень встановлено, що ліпопротеїнові моношари, сформовані з природних ПМ гепатоцитів щурів контрольної та експериментальних груп, сприяють не тільки концентруванню молекул нейротензину в полярній зоні мембрани, про що свідчать зростання значень граничного стрибка потенціалу (ГСП, $\Delta\varphi$), а й вбудовуванню молекул пептиду в моношар, внаслідок чого зростає значення поверхневого тиску ($\Delta\pi$). При зазначених умовах процес взаємодії характеризується чітко вираженою двофазністю (рисунок 3), що свідчить про досить високу специфічність і кооперативність пептид-мембранної взаємодії (при звичайній фізичній адсорбції залежність $\Delta\pi=f(\ln C)$ є однофазною).

Зростання величини ГСП є незначним (менш вираженим, ніж при взаємодії з фосфоліпідними штучними мембранами [24] і не має такого чіткого розподілу на 2 фази (рисунок 4), що також свідчить про механізм адсорбції, за якого молекули НТ на такій мембрані практично не затримуються поблизу її поверхні, а пе-

реваюно вбудовуються поміж її молекулами. Більш низькі значення зміни ГСП, звичайно, свідчать про більш інтенсивну інкорпорацію речовини в жирнокислотну ділянку мембранного матриксу.

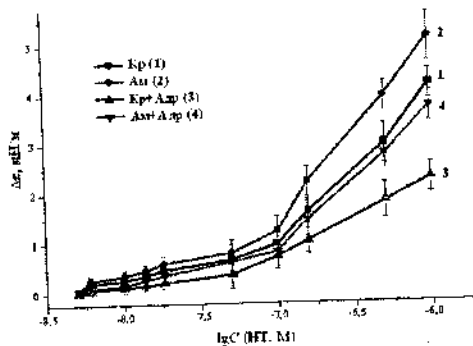


Рис. 3. Зміни поверхневого тиску ($\Delta\pi$) при взаємодії нейротензину з модельними моношаровими мембранами, сформованими з ПМ гепатоцитів шурів різних груп.

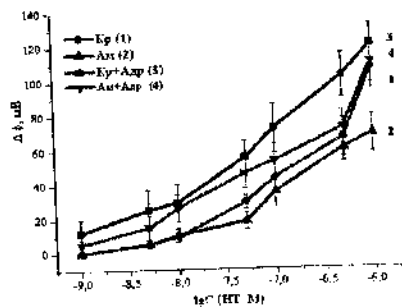


Рис. 4. Зміни граничного стрибка потенціалу ($\Delta\phi$) у модельних моношарових мембранах, сформованих з ПМ гепатоцитів шурів при адсорбції нейротензину.

Для додаткового аналізу параметрів взаємодії НТ з мембранами різних груп тварин будувались розрахункові графіки залежності $\Delta\pi = f(\Delta\ln C)$, за якими визначались такі показники: C_{\min} - мінімальна концентрація, при якій розпочинається інкорпорація біорегулятора в мембрану; коефіцієнт адсорбції Гібса (Γ), який відображає інтенсивність цього процесу, при наявності двох фаз адсорбції різної інтенсивності визначаються

значення Γ для кожної з них (Γ_I та Γ_{II}); концентрація, при якій відбувається перехід від однієї фази до другої, більш інтенсивної;

значення коефіцієнта Гібса дозволяє розрахувати також показник S_i - питому площу, що припадає на 1 молекулу адсорбованої речовини при максимальній адсорбції [23,24]. Розраховані показники представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

Параметри адсорбції нейротензину при взаємодії його з ліпопротеїновими модельними мембранами, сформованими з ПМ гепатоцитів шурів ($M \pm m$)

Групи тварин	Кр (1)	Ам (2)	Кр+Адр (3)	Ам+Адр (4)
C_{\min} , нМ	2,24±0,2	3,03±0,25* [§]	4,60±0,45*	4,65±0,38* [§]
$\Gamma_I \times 10^{-7}$ М/м ²	0,77±0,05	1,34±0,10* [§]	0,6±0,04*	1,09±0,12* [§]
$\Gamma_{II} \times 10^{-7}$ М/м ²	7,01±0,65	6,55±0,59* [§]	2,78±0,23*	5,02±0,43* [§]
$C_{\text{пер}}$, нМ	90,9±5,1	83,9±4,8 [§]	62,0±5,3*	96,5±8,1 [§]
S_i , нм ²	2,37±0,22	2,53±0,23 [§]	5,98±0,49*	3,31±0,28* [§]

Примітки: * - різниця з контрольною групою достовірна, $p < 0,05$; § - різниця з групою Кр+Адр достовірна, $p < 0,05$; § - різниця з групою Ам достовірна, $p < 0,05$.

Мінімальна діюча концентрація (C_{\min}), в якій відбувається інкорпорація молекул НТ в мембрану, є найнижчою в контролі (2,24 0,2 нМ). Вплив дієти з олією амаранту (група Ам, 2) дещо підвищує цей показник - до 3,03 0,25 нМ. Ефект застосування адреналіну виражається в зростанні показника удвічі порівняно з контролем, причому це зростання не знімається при дії адреналіну у групі тварин, які одержували добавки ОАм (група Ам+Адр, 3). Якщо прийняти до уваги дані, що низькі значення C_{\min} спостерігається при взаємодії біорегуляторів з від'ємно зарядженими мембранами (напр., ФС), то збільшення C_{\min} для ПМ тварин групи 2 (Ам) може свідчити про переважний вміст ФХ на зовнішньому шарі, а тому підвищення антикоагулянтних властивостей. Причому, таке збільшення C_{\min} відбулося без значних змін (порівняно з контролем) питомої площі на 1 молекулу (S_i). Дія адреналіну збільшила значення C_{\min} для двох груп (3 і 4), однак здатність НТ взаємодіяти з мембрани в умовах стресу у групі 4 (Ам+Адр) ефективніша (порівняно з групою 3, К+Адр), оскільки показник S_i істотно менший і наростання його не таке значуще, як у групах тварин без добавок ОАм.

На першій стадії адсорбції різниця між групами виражена незначно. При накопиченні певної кількості біорегулятора в мембрані, процес інтенсифікується (фаза II). Як бачимо з таблиці 2, вплив стресової дози адреналіну веде до незначного зменшення інтенсивності процесу адсорбції (Γ_1) на першій стадії (при низьких дозах НТ). В той же час олія амаранту підвищує цей показник порівняно зі значеннями тварин контрольної групи (Кр, 1) (сприяє адсорбції) як при самотійному застосуванні, так і на тлі дії адреналіну - в 1,75 і 1,42 рази відповідно.

В другій, інтенсивній стадії адсорбції різниця у значеннях коефіцієнта Гіббса у контролі і при застосуванні олії амаранту практично відсутня. Проте цей параметр значно знижений в групі, що піддавалася дії адреналіну (в 2,5 рази порівняно з контролем), що може свідчити про інтенсифікацію взаємодії НТ з мембранами і надмірну індукцію прозапальних сигнальних шляхів в стресових умовах. Це підтверджується, на нашу думку, значно вищими значеннями ГП при дії адреналіну у тварин, які одержували добавки ОАм (група Ам+Адр, 4) і свідчить про оптимізуючий характер впливу синергічних компонентів ОАм, коли гіперактивність функції знижується, а гіпоактивність підвищується, відмічений нами при вивченні метаболічних і фізіологічних ефектів ОАм у модельних дослідженнях та у пацієнтів різних функціональних груп [8-11,34,37,66,77]

При аналізі питомої молекулярної площі, що припадає на 1 молекулу нейротензину в мембрані при максимальній адсорбції, Si (таблиця 2), приходимо до висновку, що нейротензин здатний вбудуватися в мембрани щурів контрольної групи і тварин, що вживали олію амаранту, в однаковій кількості. Вплив адреналіну веде до зменшення цієї здатності в 1,77 (зростання питомої площі на 1 молекулу). В той же час при споживанні олії амаранту (група Ам+Адр, 4) дія адреналіну була менш вираженою і максимальна здатність НТ до інкорпорації в мембрану ($Si=3,31 \cdot 0,28 \text{ nm}^2$) хоч і знижувалась, порівняно з "амарантовими" тваринами, однак залишалася вищою за контрольні значення (таблиця 2).

Таким чином, аналіз процесів взаємодії нейротензину з дослідженими типами мембран дозволяє зробити висновок, що особливості фізико-хімічного стану мембран, набуті ними при споживанні

тваринами протягом місяця олії амаранту і піддані дії стресової дози адреналіну, відіграють важливу роль у визначенні характеру взаємодії пептиду з мембраною. Так, найменша діюча концентрація нейротензину необхідна для взаємодії з мембранами в умовах норми, тоді як взаємодія з мембранами тварин, що піддавались дії адреналіну потребує майже удвічі більших концентрацій. Однак у групі "амарантових" тварин протективний характер впливу добавок ОАм відмічений нами фактично для всіх досліджуваних параметрів. Застосування ОАм призвело до полегшення процесу адсорбції і чітко вираженої двофазності процесу (за значеннями Γ_1 та Γ_2) пептид-мембранної взаємодії, яка послабилась в умовах стресу, однак значно менше, ніж у тварин без добавок ОАм.

Загалом, синергічний вплив компонентів олії амаранту засвідчив мембранопротекторний ефект на різні типи моношарових штучних мембран у модельних дослідках *in vitro*, який полягав у підвищенні їх стабільності, ефективнішій інкорпорації складових у мембрани з фосфатидилхоліну, але подовження часу існування фосфатидилсеринових мембран. Аналогічний мембраностабілізуючий ефект відмічений у дослідках на природних (сформованих із гепатоцитів щурів, які споживали добавки ОАм, який підтримувався і для мембран гепатоцитів щурів, що зазнали дії стресової дози адреналіну, послабившись лише незначно. Окрім того, на таких ліпопротеїнових плазматичних мембранах продемонстровано підвищення мембранотропних властивостей НТ - важливого нейротрасміттера/регуляторного пептиду з важливими плейотропними ефектами, залученими у формування стійкості організму до окисного стресу. Виходячи з цього, нам здавалось важливим вивчити, чи трансформуються тенденції, виявлені в модельних дослідженнях, на рівні організму.

Вплив добавок олії амаранту на параметри системи про/антиоксиданти у крові щурів за умов норми і адреналін-індукованого стресу.

Результати цього етапу досліджень наведені у таблиці 3. Варто сказати, що представлені у таблиці результати проведені на тих самих тваринах, що й у модельних дослідках. Оскільки ми в раніше проведених дослідженнях неодноразово виявляли помірний прооксидантний вплив добавок (per os) ОАм модулюючого характеру

ру [8-11,34,37,66,77] на рівень продуктів окисної деструкції і активність основних антиоксидантних ферментів (каталази та СОД), який забезпечував антиоксидантний ефект, то важливо було проаналізувати динаміку досліджуваних параметрів у цьому контексті. Аналіз представлених у таблиці 3 результатів повністю підтверджує вектор позитивних змін, одержаних нами раніше у комплексних дослідженнях вивчення метаболічних ефектів низьких доз добавок ОАм, які, до того ж, забезпечували підвищення функціонально-метаболічного резерву і стійкості організму до окисного стресу. У даній роботі особливо виразними є різниці вмісту ЛП і гідропероксидів, причому не тільки під впливом добавок ОАм, але, що навіть більш важливо, їх істотно ефективніша утилізація у відповідь на дію стрес-фактора. Зазначимо, що прооксидантний (але з антиоксидантним ефектом) характер впливу ОАм, зазвичай, проявляється покращенням утилізації недоокислених продуктів атерогенних ліпопротеїнів та гідропероксидів у першу чергу, в той час як рівень МДА, ОМБ, СМП модулюється, швидше за все, до поточних функціональних потреб, однак завжди спостерігали тенденцію до нормалізації як занадто високих значень, так і занадто низьких).

Таблиця 3

Параметри системи про/антиоксиданти у крові шурів різних груп, (М+м)

Показник/Група	Кр (1)	Ам (2)	Кр+Адр (3)	Ам+Адр (4)
Каталаза, мкМоль Н ₂ О ₂ /мл * год	0,179±0,005	0,164±0,007 [§]	0,205±0,002*	0,166±0,003 [§]
СОД, % інгібування	23,65±0,49	20,48±1,26* [§]	10,17±0,48*	12,07±0,93* [§]
МДА, мкМоль/мл	91,62±3,67	100,18±1,73* [§]	86,51±0,72	73,20±1,53* [§]
Л _{ЛДЛ} , уо	1,393±0,016	1,374±0,021 [§]	1,174±0,031*	1,315±0,034* [§]
ЛП, уо/мл	14,37±0,66	10,13±0,94* [§]	6,27±0,27*	3,37±0,14* [§]
МДА/ЛП, уо	6,45±0,25	10,87±1,03* [§]	14,01±0,58*	21,00±0,85* [§]
ГП, уо	0,332±0,019	0,442±0,042* [§]	0,800±0,046*	0,513±0,024* [§]
СМП 254 нм, уо/мл	215,7±3,6	188,6±2,9* [§]	203,7±3,8*	230,7±8,4* [§]
СМП 280 нм, уо/мл	212,5±7,9	148,2±4,2* [§]	227,3±9,1	266,3±20,8* [§]
К (254/280), уо	1,046±0,024	1,278±0,022* [§]	0,906±0,035*	0,893±0,044* [§]
ОМБ 370нм, уо	7,61±0,14	4,18±0,15* [§]	5,18±0,39*	5,62±0,04* [§]
ОМБ 430нм, уо	6,20±0,16	2,70±0,12*	3,28±0,35*	2,99±0,07*
К (370/430), уо	1,237±0,034	1,565±0,058*	1,649±0,091*	1,883±0,028* [§]

Примітки: * - різниця з контрольною групою достовірна, $p < 0,05$; § - різниця з групою К+Адр достовірна, $p < 0,05$; § - різниця з групою Ам достовірна, $p < 0,05$.

Як видно з результатів, представлених у таблиці 3, під впливом ОАм дещо збільшувався лише рівень МДА, тоді як рівні ОМБ та СМП були істотно нижчими від контрольних, причому на тлі нижчих активностей каталази і СОД. Однак, на дію стрес-фактора реакція-відповідь метаболічної системи "амарантових" тварин значно ефективніша, відмічено повнішу утилізацію МДА, практично незмінні значення ОМБ, а рівень СМП навіть наростав, в той час як активність каталази і СОД не зазнали змін. У групі шурів без добавок ОАм реакція на дію адреналіну була типовою стрес мобілізуючою реакцією, з ознаками напруження, судячи за зростанням і так високої активності каталази і недостатньою утилізацією продуктів окисної деструкції і, що особливо негативно, більш як двократним наростанням ГП. Беручи до уваги дані про інгібуючий вплив продуктів ліпопероксидації, особливо гідропероксидів ЖК на синтез простагліцину I₂ (сильний антиагрегант), а також про здатність ОАм підвищувати рівень ω-3 ейкозопентаєнової ЖК (головний субстрат для утворення PGI₂), стає зрозумілішим одержаний у роботі факт інтенсивнішої інкорпорації компонентів ОАм у моношар ФХ мембран, але підтримання найбільшого стабільного часу існування для ФС мембран. Тобто, модулюючий механізм впливу ОАм направлений одночасно на ефективнішу взаємодію із фосфатидилхоліном, який має високий антикоагулянтний потенціал, і на пригнічення швидкості окиснення фосфатидилсерину з високою здатністю до вільнорадикальної деструкції. До того, підвищення стабільності різних досліджуваних нами мембран під впливом ОАм опосередковано може свідчити про посилення асиметричного розподілу мембранних фосфоліпідів і переважання ФХ на зовнішній поверхні, що є ознакою структурно-функціональної цілісності, яка підтримується активним аеробним обміном. Очевидно, такі фізико-хімічні особливості мембран є оптимальними для функціонування мембранозв'язаних ферментів і кооперації рецепторів у реалізації специфічних біологічних ефектів і розгортання того чи іншого сигнального каскаду. Не виключено, що для НТ, ефект якого реалізується через три типи рецепторів (NTS1, NTS2, NTS3) [58,65,70] і механізми якого на сьогодні

недостатньо зрозумілі (особливо щодо трансмембранного NTS3, рецептора-перемикача), модифікація ліпідного матриксу та етап безрецепторного типу взаємодії є особливо важливим для вибору ступеня активації сигнальних шляхів і наступної експресії прозапальних транскрипційних факторів (NF- κ B, TNF- α) цитокінів (IL-8, IL-6), деяких інших регуляторних пептидів (ГПП-1 - глюкагонпептидний гормон, стимулює секрецію інсуліну) [39,43,44,54,69,70,72,78,79].

Висновки

1. Підсумовуючи, слід зазначити, що проведені модельні дослідження на моношарових штучних і природних ліпопротеїнових мембранах поглибили наші знання про механізми мембраностабілізуючого, мембранотропного, стресопротекторного ефектів добавок олії з насіння амаранту, який базується на її здатності помірно активувати вільно радикальні реакції, модифікуючи фізико-хімічні властивості жирнокислотного кору ліпідного матриксу, що тонізує функціональну активність мембран та оптимізує їх взаємодію із регуляторними субстанціями.

2. В модельних дослідах *in vitro* на моношарових штучних мембранах встановлено посилення інкорпорації компонентів олії амаранту (за значеннями поверхневого тиску $\Delta\pi$ і граничного стрибка потенціалу $\Delta\phi$) у ліпідний шар різних мембран у послідовності азолектинові (АЛ)>фосфатидилхолінові (ФХ)>фосфатилсериніві (ФС), однак час стабільного існування таких модифікованих мембран має дещо іншу послідовність: азолектинові (АЛ)>фосфатилсериніві (ФС)>фосфатидилхолінові (ФХ), що може вказувати на здатність олії амаранту підвищувати антикоагулянтний потенціал мембран.

3. Застосування олії амаранту до стандартного раціону щурів призводить до підвищення стійкості плазматичних мембран, виділених з гепатоцитів, як у нормі, так і за умов адреналін-індукованого стресу, що може бути одним із механізмів модифікації жирнокислотного складу мембран під час активації вільнорадикальних реакцій

4. Взаємодія нейротензину з мембранами, виділеними із груп "амарантових" тварин була значно ефективнішою, інтенсивність інкорпорації молекул НТ (за значеннями поверхневого тиску

$\Delta\pi$ та граничного стрибка потенціалу $\Delta\phi$) зростала і підтримувалась (незначно послабившись) навіть при дії стресової дози адреналіну. Застосування ОАм призвело до полегшення процесу адсорбції і чітко вираженої двофазної процесу пептид-мембранної взаємодії, які послабились в умовах стресу, однак значно менше, ніж у тварин без добавок ОАм. Такі зміни мембранотропної активності нейротензину по відношенню до ПМ гепатоцитів "амарантових" тварин супроводжувались підвищеним вмістом продуктів окисної деструкції у мембранах (маломовного днальдегіду та окисномодифікованих білків).

5. Аналіз параметрів системи про/антиоксиданти у крові щурів різних груп засвідчив формування помірної прооксидантної активності під впливом ОАм, яка є необхідною для ефективної корекції окисного стресу і підвищення стресостійкості організму.

6. Таким чином, враховуючи показану раніше ω 3-міметичну дію ОАм за рахунок її унікального складу (до 50% лінолевої жирної кислоти, до 2% ліноленової, каротиноїди, токоферолі, токотрієноли, до 8% сквалену), а також здатність модулювати активність антиоксидантних ферментів, які беруть важливу участь в генерації внутрішньоклітинного O_2 і контролі оптимального потоку активних форм кисню в умовах нової інтенсивності кисеньзалежних реакцій, можна зробити висновок про доцільність застосування низьких доз ОАм для підтримання кисневого та енергетичного гомеостазу при цілеспрямованій стимуляції механізмів неспецифічної стійкості клітин і організму в цілому.

Література

1. Артюхов В.Г. Биологические мембраны: структурная организация, функции, модификация физико-химическими агентами / Артюхов В.Г., Наквасин М.А. - Воронеж: изд. Воронежского гос. ун-та, 2000. - 295 с.

2. Бурлакова Е.Б. Действие сверхмалых доз биологически активных веществ и низкоинтенсивных физических факторов / Е.Б. Бурлакова, А.А. Конрадов, Е.Л. Мальцева // Хим. физика. - 2003. - Т. 22, № 2. - С. 21-40.

3. Воейков В.Л. Активные формы кислорода - патогены или целители? / В.Л. Воейков // Клиническая геронтология. - 2003. - № 3. - С. 27-40.

Екологічні аспекти сучасної біології та медичної генетики

4. Воейков В.Л. Ключевая роль устойчиво неравновесного состояния водных систем в биоэнергетике / В.Л.Воейков // Росс. хим. журнал. (Журнал РХО им. Д.И. Менделеева). - 2009. - Т. 53, № 6. - С. 41-49.

5. Гаркави Л.Х. Антистрессорные реакции и активационная тералия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации. Часть 1 / Л.Х.Гаркави, Е.Б.Квакина, Е.С.Кузьменко, Ф.И.Шихлярова. - Екатеринбург: Филантроп, 2002. - 196 с.

6. Дмитриева Н.В. Электрофизиологические механизмы развития адаптационных процессов / Н.В. Дмитриева // Физиология человека. - 2004. - Т. 30, № 3. - С. 35-44.

7. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение) / Е.Е.Дубинина. - СПб.: Медицинская Пресса, 2006. - 400 с.

8. Єлісєєва О.П. Особливості впливу олії з насіння амаранта на стан антиоксидантної системи печінки та крові мишей за розвитку в них злоякісної лімфоми / О.П.Єлісєєва, Д.В.Камінський, А.П.Черкас [та інші.] // Укр. біохімічний журнал. - 2006. - Т. 78, № 1. - С. 117-123.

9. Єлісєєва О.П. Особливості механізмів індивідуально дозованого інтервального гіпоксично-гіперкапічного впливу на варіабельність ритму серця у спортсменів / О.П.Єлісєєва, Х.О.Семен, А.П.Черкас [та інші.] // Фізіол. журнал. - 2007. - Т. 53, № 4. - С. 77-85.

10. Єлісєєва О.П. Дослідження механізмів взаємозв'язків аеробного метаболізму і варіабельності серцевого ритму у пацієнтів з різних функціональних груп: коригуючий ефект олії амаранту. Частина 1 / О.П.Єлісєєва, Х.О.Семен, Д.В.Камінський [та інші.] // Експ. та клін. фізіол. і біохім. - 2011. - № 2. - С. 48-67.

11. Єлісєєва О.П. Комплексна оцінка впливу олії амаранту на функціонально-метаболічний резерв у хворих на цукровий діабет 1-го типу / О.П.Єлісєєва, О.О.Сергієнко, А.П.Черкас [та інші.] // Вісник Львів. ун-ту. Серія біол. - 2007. - № 44. - С. 135-145.

12. Єлісєєва О.П. Варіабельність серцевого ритму у хворих на цукровий діабет: спроба метаболічної інтерпретації / О.П.Єлісєєва, О.О.Сергієнко, А.П.Черкас [та інші.] // Пробл. ендокр. патології. - 2005. - № 1. - С. 95-110.

13. Зинчук В.В. Роль кислородсвязывающих свойства крови в поддержании прооксидантного-антиоксидантного равновесия организма / В.В.Зинчук, М.В.Борисюк // Усп. физиологических наук. - 1999. - Т. 30, № 3. - С. 38-48.

14. Ипатов О.М. Биологическая активность льняного масла как источника омега-3-альфа-линоленовой кислоты / О.М.Ипатов, Н.Н.Прозоровская, В.С.Баранова, Д.А.Гусева // Биомед. химия. - 2004. - № 1. - С. 25-43.

15. Ксенжек О.С. О возможностях использования техники монослоев для исследования свойств поверхностно-активных веществ / О.С.Ксенжек, В.С.Гевод // Сурфактанты легкого в норме и патологии / О.С.Ксенжек, В.С.Гевод. - Київ: Здоров'я, 1983. - С. 155-163.

16. Кулакова С.Н. Масло амаранта: особенности химического состава и влияние на показатели липидного обмена крыс / С.Н.Кулакова, А.Л.Поздняков, И.И.Корф [и др.] // Вопросы питания. - 2006. - № 3. - С. 36-42.

17. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: Механизмы и защитные эффекты адаптации / Ф.З.Меерсон. - М.: Известия, 1993. - 331 с.

18. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания / Е.Б.Меньщикова, Н.К.Зенков, В.З.Ланкин [та інші.]. - Новосибирск: АРТА, 2008. - 284 с.

19. Могилевич Б.Р. Теоретический подход к определению мембранотропной активности регуляторных пептидов / Б.Р.Могилевич, В.К.Рыбальченко, Г.В.Островская // Биофизика. - 1995. - Т. 40, № 1. - С.95-97.

20. Муравьев А.В. Вне- и внутриклеточные механизмы изменения агрегации эритроцитов / А.В.Муравьев, А.А.Муравьев // Физиология человека. - 2005. - Т. 31, № 4. - С. 108-112.

21. Мураневич С.А. Только ли через рецепторы осуществляется модулирующее действие нейропептидов / С.А. Мураневич // Физиол. журнал им. И.М.Сеченова. - 1993. - Т. 79, № 4. - С. 9-29.

22. Ноздрачев А.Д. Один из взглядов на управление сердечным ритмом: интракардиальная регуляция / А.Д.Ноздрачев, С.А.Котельников, Ю.П.Мажара, К.М.Наузов // Физиология человека. - 2005. - Т. 31, № 2. - С.116-129.

23. Островская Г.В. Взаимодействие нейротензина с модельными мембранами / Г.В.Островская, В.К.Рыбальченко, И.В.Порало // Вестн. пробл. биол. и мед. - 1996. - № 12. - С.21-26.

24. Островська Г.В. Первинні механізми мембраномодулюючої дії біорегуляторів природного і синтетичного походження: Дис. ...д-ра біол. наук: спец. 03.00.02 / Г.В. Островська. - Київ, 2004. - 332 с.

25. Островська Г.В. Порівняльна характеристика мембранотропної активності мет- і лей-енкефалінів / Г.В.Островська, Ю.М.Мельник, В.К.Рибальченко // Вісн. Київ.ун-ту. Пробл. регул. фізіол. функцій. - 1998. - № 3. - С. 65-69.

Екологічні аспекти сучасної біології та медичної генетики

26. Порало І.В. Мембранотропні ефекти неглікозидного кардіотонічного препарату суфан / І.В.Порало, Г.В.Островська, В.К.Рибальченко // Доп. НАН України. Біологія. - 2000. - № 4. - С.195-198.

27. Рибальченко В.К. Мембранотропні ефекти біорегуляторів: 1. Ендогенні пептиди / В.К.Рибальченко, Г.В.Островська, Т.В.Рибальченко // Фітотерапія. - 2002. - № 1-2. - С. 53-59.

28. Рибальченко В.К. Мембранотропна активність нейропептиду кіоторфіну та кардіотонічного препарату суфану / В.К.Рибальченко, І.В.Порало, Г.В.Островська [та інші.] // Нейрофізіологія. - 1999. - Т. 31, № 3. - С. 266-269.

29. Рибальченко Т.В. Безрецепторная межклеточная химическая сигнализация / Т.В.Рибальченко, Г.В.Островська, Е.А.Кондратюк [та інші.] // Нейрофізіологія. - 2000. - Т. 32, № 3. - С. 281-282.

30. Рибальченко В.К. "Липидная" гипотеза связывания окситоцина плазматической мембраной гладкомышечных клеток / В.К.Рибальченко // Докл. АН СССР. - 1990. - Т. 314, № 4. - С. 106-108.

31. Рибальченко В.К. Мембранотропная активность нейрогипофизарных гормонов / В.К.Рибальченко, Г.В.Островская - Луганськ: Елтон-2, 1998. - 82 с.

32. Рибальченко В.К. Активная роль липидного матрикса плазматических мембран в реализации эффектов регуляторных пептидов / В.К.Рибальченко, Г.В.Островская, В.К. Рибальченко // Тканевые регуляторные пептиды. Теоретические аспекты и перспективы практического применения / под общ.ред. И.П.Кайдашева, В.П.Мищенко, В.К. Рибальченко. - Київ: Здоров'я, 2003. - С. 309-330.

33. Сазонтова Т.Г. Роль свободнорадикальных процессов и редокс-сигнализации в адаптации организма к изменению уровня кислорода / Т.Г.Сазонтова, Ю.В.Архипенко // Росс. физиол. журнал им. И.М.Сеченова. - 2005. - Т. 91, № 6. - С. 636-655.

34. Сирота Т.В. Масло семян Амаранта: Влияние на энергетические функции активированных адреналином митохондрий печени крыс / Т.В.Сирота, О.П.Елисеева, Н.В.Хундерякова, О.А.Махотина // Биол мембраны. - 2008. - Т. 25, № 1. - С. 41-49.

35. Струкова С.М. Роль тромбоцитов и сериновых протеаз в сопряжении свертывания крови и воспаления / С.М.Струкова // Биохимия. - 2004. - Т. 69, № 10. - С. 1314-1331.

36. Тимочко М.Ф. Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах / М.Ф.Тимочко, О.П.Елісеева, І.Л.Кобилінська, І.Ф.Тимочко. - Львів: Місіонер, 1998. - 142 с.

37. Черкас А.П. Вплив олії з насіння амаранту на параметри аеробного обміну та варіабельність серцевого ритму у хворих на пептичну виразку дванадцятипалої кишки / А.П.Черкас, О.П.Еліс-

еева, О.О.Абрагамович [та інші.] // Експ. клін. фізіол. біохім. 2008. - № 3. - С.71-80.

38. Arumugam T.V. Hormesis/preconditioning mechanisms, the nervous system and aging / T.V.Arumugam, M.Gleichmann, S.C.Tang, M.P.Mattson // Ageing Res. Rev. - 2006. - V. 5, № 2. - P. 165-178.

39. Assimakopoulos S.F. Pleiotropic effects of bombesin and neurotensin on intestinal mucosa: not just trefoil peptides / S.F.Assimakopoulos, C.D.Scopa, V.N.Nikolopoulou, C.E.Vagianos // World J. Gastroenterol. - 2008. - V. 14, № 22. - P. 3602-3603.

40. Berger A. Cholesterol-lowering properties of amaranth grain and oil in hamsters / A.Berger, G.Gremaud, M.Baumgartner [e.a.] // Int. J. Vitam. Nutr. Res. - 2003. - V. 73, № 1. - P. 39-47.

41. Bochkov V.N. Generation and Biological Activities of Oxidized Phospholipids / V.N.Bochkov, O.V.Oskolkova, K.G.Birukov [e.a.] // Antioxid. Redox. Signal. - 2010. - V. 12, № 8. - P.1009-1059.

42. Brockman H. Lipid monolayers: why use half a membrane to characterize protein-membrane interactions? / H.Brockman // Curr. Opin. Struct. Biol. - 1999. - V. 9, № 4. - P. 438-443.

43. Brun P. Neuropeptide neurotensin stimulates intestinal wound healing following chronic intestinal inflammation / P.Brun, C.Mastrotto, E.Beggiao [e.a.] // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. - 2005. - V. 288, № 4. - P. G621-629.

44. Carraway R.E. Involvement of neurotensin in cancer growth: Evidence, mechanisms and development of diagnostic tools / R.E.Carraway, A.M.Plona // Peptides. - 2006. - V. 27. - P. 2445-2460.

45. Catala A. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions / A. Catala // Chem. physics. lipids - 2009. - V. 157. - P. 1-11.

46. Cohen G. Lipid peroxidation of poly-unsaturated fatty acids in normal and obese adipose tissues / G.Cohen, Y.Riahi, S. Sasson // Arch. Physiol. Biochem. - 2011. - V. 117, № 3. - P. 131-139.

47. Das D.K. Preconditioning potentiates redox signaling and converts death signal into survival signal / D.K.Das, N.Maulik // Arch. Biochem. Biophys. - 2003. - V. 420. - P.305-311.

48. Das U.N. Beneficial effect(s) of n-3 fatty acids in cardiovascular diseases: but, why and how? / U.N.Das // Prostagland. Leukotrien. Essent. Fatty Acids. - 2000. - V. 63, № 6. - P. 351-362.

49. Evers B.M. Neurotensin and growth of normal and neoplastic tissues / B.M. Evers // Peptides. - 2006. - V. 27. - P. 2424-2433.

50. Gurusamy N. Cardioprotection by adaptation to ischaemia augments autophagy in association with BAG-1 protein / N.Gurusamy,

- I.Lekli, N.V.Gorbunov [e.a.]//*J. Cell. Mol. Med.* - 2009.- V. 13, № 2. - P. 373-387.
51. Jones D.P. Radical-free biology of oxidative stress / D.P. Jones // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* - 2008. - V. 295. - P. C849-C868.
52. Katsanos G.S. Biology of neurotensin: revisited study / G.S.Katsanos, A.Anogianaki, M.L.Castellani [e.a.]// *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* - 2008. - V. 21, № 2. - P. 255-259.
53. Kitabgi P. Differential processing of pro-neurotensin/neuromedin N and relationship to pro-hormone convertases / P.Kitabgi//*Peptides.* - 2006. - V. 27. - № 2508-2514.
54. Koon H.W. Neurotensin induces IL-6 secretion in mouse preadipocytes and adipose tissues during 2,4,6,-trinitrobenzenesulphonic acid-induced colitis / H.W.Koon, Y.S.Kim, H.Xu [e.a.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 2009.- V. 106, № 21. - P. 8766-8771.
55. Lee A.G. How lipids affect the activities of integral membrane proteins / A.G.Lee//*Biochim. Biophys. Acta.* - 2004.- V. 1666. - P. 62-87.
56. Mangoni M.E. Genesis and regulation of the heart automaticity / M.E.Mangoni, J.Nargeot//*Physiol. Rev.* - 2008.- V. 88, № 3. - P. 919-982.
57. Mattson M.P. Hormesis defined / M.P.Mattson//*Ageing Res. Rev.* - 2008.- V. 7, № 1. - P. 1-7.
58. Mazella J. Functional roles of the NTS2 and NTS3 receptors / J.Mazella, J.-P. Vincent//*Peptides.* - 2006.- V. 27. - P. 2469-2475.
59. Mozaffarian D. Trans fatty acids - effects on systemic inflammation and endothelial function / D. Mozaffarian//*Atheroscler. Suppl.* - 2006.- V. 7, № 2. - P. 29-32.
60. Muraki K. Neurotensin receptors on the rat liver plasma membranes. *Commun* / K.Muraki, Y.Nishi, M.Arai [e.a.]//*Biochem. Biophys. Res.* - 1987.- V. 145, № 3. - P. 1071-1079.
61. Negre-Salvayre A. Pathological aspects of lipid peroxidation / A.Negre-Salvayre, N.Auge, V.Ayala [e.a.]//*Free Radic. Res.* - 2010.- V. 44, № 10. - P. 1125-1171.
62. Oishi O. Conformations and orientations of aromatic amino acid residues of tachyplestin I in phospholipid membranes / O.Oishi, S.Yamashita, E.Nishimoto [e.a.]//*Biochemistry.* - 1997.- V.36, № 14. - P.4352-4359.
63. Oz M. Receptor-independent actions of cannabinoids on cell membranes: Focus on endocannabinoids / M.Oz// *Pharmacol. Therapeutics.* - 2006.- V. 111, № 1. - P.114-144.
64. Packer L. Oxidants and antioxidants revisited. New concepts of oxidative stress / L.Packer, E. Cadenas//*Free Radical. Res.* - 2007.- V. 41, № 9. - P. 951-952.

65. Pelaprat D. Interactions between neurotensin receptors and G proteins / D. Pelaprat//*Peptides.* - 2006.- V. 27. - P. 2476-2487.
66. Semen K.O. Interval hypoxic training in complex treatment of *Helicobacter pylori*-associated peptic ulcer disease / K.O.Semen, O.P.Yelisyeyeva, D.V.Kaminsky [e.a.]//*Acta biochim. pol.* - 2010.- V. 57, № 2. - P. 199-208.
67. Shin D.H. Amaranth squalene reduces serum and liver lipid levels in rats fed a cholesterol diet / D.H.Shin, H.J.Heo, Y.J.Lee, H.K.Kim//*Br. J. Biomed. Sci.* - 2004.- V. 61, № 1. - P. 11-14.
68. Simopoulos A.P. Omega-3 Fatty Acids in Inflammation and Autoimmune Diseases / A.P.Simopoulos//*J. Am. Coll. Nutr.* - 2002.- V. 21, № 6. - P. 495-505.
69. Snoek S.A. Neuropeptide receptors in intestinal disease: physiology and therapeutic potential / S.A.Snoek, K.S.Borensztajn, R.M. van den Wijngaard, W.J. de Jonge//*Curr. Pharm. Des.* - 2010.- V. 16, № 9. - P. 1091-1105.
70. Souzaze F. Molecular and cellular regulation of neurotensin receptor under acute and chronic agonist stimulation / F.Souzaze, P.Forgez//*Peptides.* - 2006.- V. 27. - P. 2493-2501.
71. Stuchlik M. Vegetable lipids as components of functional foods / M.Stuchlik, S. Zak//*Biomed. Papers.* - 2002. - V. 146, № 2. - P. 3-10.
72. Trayhurn P. Secreted proteins from adipose tissue and skeletal muscle - adipokines, myokines and adipose/muscle cross-talk / P.Trayhurn, A.Christian, C.A.Drevon, J.Eckel//*Arch. Physiol. Biochem.* - 2011.- V. 117, № 2. - P. 47-56.
73. Valko M. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease / M.Valko, D.Leibfrit, J.Moncol [e.a.]// *Int. J. Biochem. Cell Biol.* - 2007. - V. 39, № 1. - P. 44-84.
74. Videla L.A. Oxidative stress signaling underlying liver disease and hepatoprotective mechanisms / L.A.Videla// *World J. Hepatol.* - 2009.- V. 1, № 1. - P. 72-78.
75. Voeikov V.L. Water Respiration - The Basis of the Living State / V.L.Voeikov, E.Del Giudice//*WATER.* - 2009.- V. 1. - P. 52-75.
76. Wymann M.P. Lipid signalling in disease / M.P.Wymann, R.Schneiler//*Nat.Rev.Mol. Cell Biol.* - 2008. - V. 9, № 2. - P. 162-176.
77. Yelisyeyeva O. Study of Aerobic Metabolism Parameters and Heart Rate Variability and Their Correlations in Elite Athletes: a Modulatory Effect of Amaranth Oil / O.Yelisyeyeva, A.Cherkas, K.Semen [e.a.]//*CEMED.* - 2008.- V. 3, № 2. - P. 293-307.

78. Zhao D. *Insulin-like growth factor-1 receptor transactivation modulates the inflammatory and proliferative responses of neurotensin in human colonic epithelial cell* / D.Zhao, K.Bakirtzi, Y.Zhan [e.a.] // *J. Biol. Chem.* - 2011. - V. 286, № 8. - P. 6092-6099.

79. Zhao D. *Effects of NT on gastrointestinal motility and secretion, and role in intestinal inflammation* / D.Zhao, C.Pothoulakis // *Peptides*. - 2006. - V. 27, № 10. - P. 2434-2444.

Резюме

Елісеєва О.П., Островська Г.В., Камінський Д.В., Семен Х.О., Яблонська С.В., Нектегаєв І.О., Рыбальченко В.К. *Особливості мембранотропного впливу нейротензину на плазматичні мембрани гепатоцитів щурів, годуваних олією амаранту, у нормі та за умов адреналін-індукованого стресу.*

Вивчали вплив нейротензину (НТ) на модуляцію фізико-хімічного стану моношарових ліпопротеїнових мембран, сформованих із плазматичних мембран (ПМ) гепатоцитів щурів, яким протягом місяця згодували олію з насіння амаранту (ОАм). Встановлено підвищення стабільності ПМ гепатоцитів щурів, які одержували добавки ОАм, за умов норми та адреналін-індукованого стресу, порівняно із тваринами, які не одержували таких добавок. Взаємодія НТ із мембранами, виділеними із груп "амарантових" тварин була значно ефективнішою, інтенсивність інкорпорації молекул НТ зростала і підтримувалась на рівні контрольної групи навіть при дії стресової дози адреналіну. Застосування ОАм призвело до полегшення процесу адсорбції і чітко вираженої двофазної процесу пептид-мембранної взаємодії, які послабились в умовах стресу, однак значно менше, ніж у тварин без добавок ОАм. Аналіз параметрів системи про/антиоксиданти у крові щурів різних груп засвідчив формування помірної прооксидантної активності під впливом ОАм, яка є необхідною для ефективного корекції окисного стресу і підвищення стресостійкості організму.

Ключові слова: нейротензин, олія амаранту, модель моношарових мембран, фізико-хімічний стан, плазматичні мембрани, гепатоцити, система про/антиоксиданти, модель адреналін-індукованого стресу, вища стресостійкість, щурі.

Резюме

Елісеєва О.П., Островская Г.В., Каминский Д.В., Семен Х.О., Яблонская С.В., Нектегаев И.А., Рыбальченко В.К. *Особенности мембранотропного влияния нейротензина на плазматические мембраны гепатоцитов крыс, которым скармливали масло амаранта, в норме и в условиях адреналин-индуцированного стресса.*

Изучали влияние нейротензина (НТ) на модуляцию физико-химического состояния монослойных липопротеиновых мембран, сформированных из плазматических мембран (ПМ) гепатоцитов крыс, которым в течение месяца скармливали масло из семян амаранта (МАм). Установлено повышение стабильности ПМ гепатоцитов крыс, получавших добавки МАм, в условиях нормы и адреналин-индуцированного стресса по сравнению с жи-

потными, которые не получали таких добавок. Взаимодействие НТ с мембранами, выделенными из групп "амарантовых" животных было значительно более эффективное, интенсивность инкорпорации молекул НТ возрастала и поддерживалась на уровне контрольной группы даже при действии стрессовой дозы адреналина. Применение МАм привело к облегчению процесса адсорбции и четко выраженной двухфазности процесса пептид-мембранного взаимодействия, которые ослабевали в условиях стресса, однако значительно меньше, чем у животных без добавок МАм. Анализ параметров системы про/антиоксиданты в крови крыс разных групп показал формирование умеренной прооксидантной активности под влиянием МАм, необходимой для эффективной коррекции окислительного стресса и повышения стрессоустойчивости организма.

Ключевые слова: нейротензин, масло амаранта, модель монослойных мембран, физико-химическое состояние, плазматические мембраны, гепатоциты, система про/антиоксиданты, модель адреналин-индуцированного стресса, высшая стрессоустойчивость, крысы.

Summary

Yelisyeyeva O.P., Ostrovska H.V., Kaminsky D.V., Semen K.O., Yablonska S.V., Nektgayev I.O., Rybalchenko K.V. *Membranotropic effects of neurotensin on plasmatic membranes of rat hepatocytes supplemented with amaranth oil under normal conditions and adrenalin induced stress.*

The effects of neurotensin on modulation of the physical chemical properties of monolayer lipoprotein membranes composed of plasmatic membranes (PM) of rat hepatocytes were studied after monthly supplementation of rodents with Amaranth oil (AmO). Increase in the stability of PM of rat hepatocytes was noted after AmO use under normal conditions and after adrenalin induced stress when comparing with non-supplemented animals. Interaction of neurotensin with membranes derived from AmO supplemented rats was shown to be more efficient, intensity of neurotensin molecules incorporation increased and was maintained at the control level even after stress dose of adrenalin. Use of AmO improved the absorption process and caused distinct biphasic specification of peptide-membrane interaction process, which were reduced after adrenalin stress more prominently in non-supplemented animals. The analysis of prooxidant/antioxidant balance in blood of rats from different groups demonstrated mild prooxidant activity after AmO intake, which is an essential prerequisite for efficient correction of oxidative stress and increase in organisms' stress resistance.

Key words: neurotensin, amaranth oil, physical chemical properties of monolayer lipoprotein membranes, plasmatic membranes, hepatocytes, pro/antioxidant system, adrenalin induced stress, higher stress resistance, rats.

Рецензент: д.біол.н., проф. С.М.Смірнов