

КИЇВСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

ОСТРОВСЬКА Галина Віталіївна

РОЛЬ МЕМБРАНОТРОПНИХ ЕФЕКТИВ В МЕХАНІЗМАХ  
БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ НЕЙРОГІПОФІЗАРНИХ ГОРМОНІВ

03.00.11 - ембріологія, гістологія і цитологія

03.00.04 - біохімія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Київ - 1995



Робота виконана в лабораторії мембранології НДІ фізіології Київського університету імені Тараса Шевченка та на кафедрі медичної біології Медичного інституту Української асоціації народної медицини

Науковий керівник:

доктор біологічних наук, професор Рибальченко В.К.

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор Кононський О.І.

доктор біологічних наук, професор Войциський В.М.

Провідна установа - НДІ ендокринології та обміну речовин  
АМН України, м.Київ

Захист дисертації відбудеться 16 травня 1995 р. о 14 годині  
на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.01.01.13  
при Київському Університеті імені Тараса Шевченка.  
Адреса: 252033, Київ-33, вул.Володимирська, 64

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Київського  
Університету ім.Тараса Шевченка.

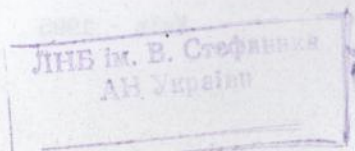
Автореферат розісланий "14" квітня 1995 року.

Вчений секретар

спеціалізованої ради,

кандидат біологічних наук, доцент

Данилова О.В.



## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність проблеми.** З'ясування механізмів дії пептидних біорегуляторів на клітину є одним з основних завдань сучасної цитології та біохімії, а також має важливе значення для направленного створення нових фармакологічних препаратів пептидної природи з заданою дією і більш ефективних засобів застосування існуючих. Зараз пояснення цих механізмів в основному обмежується гормон-рецепторною теорією, яка не може дати вичерпної відповіді на ряд питань - наприклад, про шляхи вибору конформації діючої на рецептор молекули біорегулятора, про сприйняття біологічних сигналів клітинами при відсутності відповідних специфічних рецепторів (про що свідчить аналіз еволюційного та онтогенетичного розвитку організмів різних класів). Існує також багато експериментальних даних, які дуже важко, а часом й зовсім неможливо пояснити тільки з позицій загальноприйнятих положень гормон-рецепторної теорії. Для з'ясування механізмів взаємодії РР з мембраною необхідно залучати, крім рецепторів, також і інші її структури, а саме її ліпідний бішар, якому довгий час відводилася лише пасивна роль структурного матриксу.

**Мета і основні завдання досліджень.** Метою роботи було дослідження поверхнево-активних та мембранотропних властивостей окситоцину, вазопресину та їх аналогів, а також вивчення деяких цитолого-біохімічних ефектів нейрогіпофізарних гормонів при їх безрецепторному механізмі зв'язування з плазматичною мембраною.

У відповідності до мети роботи були поставлені завдання:

1. Дослідити власну поверхневу активність нейрогіпофізарних гормонів окситоцину і вазопресину та їх синтетичних аналогів.
2. Вивчити особливості взаємодії цих пептидів з модельними ліпідними мембранами (моношари та ліпосоми).
3. Дослідити здатність нейрогіпофізарних гормонів впливати на проникність для  $Ca^{2+}$  ліпосом та везикул саркоплазматичного ретикулуму.
4. Дослідити вплив нейрогіпофізарних гормонів на активність мембранозв'язаного ферменту  $Mg^{2+}, Ca^{2+}$ -АТФази ПМ міоцитів в умовах, коли взаємодія з специфічними білковими рецепторами виключається, а також на активність  $Ca^{2+}$ -АТФази саркоплазматичного ретикулуму.

5. Дослідити особливості взаємного впливу досліджуваних пептидів на мембранотропну активність один одного при їх комбінованому застосуванні.

**Наукова новизна роботи.** Вперше встановлена поверхнева активність нейрогіпофізарних гормонів (НГГ) та параметри їх взаємодії з ліпідними моношарами та ліпосомами, а також з аналогічними структурами, сформованими з везикул плазматичних мембран, і з мембранами саркоплазматичного ретикулуму. Вперше встановлені цитолого-біохімічні ефекти нейрогіпофізарних гормонів, що обумовлені безрецепторним механізмом їх зв'язування з ПМ і полягають в гальмуванні  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ -АТФази та підвищенні іонної проникності як фосфатидилхолінових ліпосом, так і везикул саркоплазматичного ретикулуму. Встановлені ефекти чітко корелюють з поверхневою активністю окремих пептидів - за цитолого-біохімічними ефектами та за поверхневою активністю вони складають ряд: дезаміноокситоцин > окситоцин > вазопресин. Комбіноване застосування пептидів веде до неаддитивного мембранотропного ефекту, який обумовлений дією пептидів на ліпідний бішар мембрани.

**Практичне значення роботи.** Встановлені первинні механізми взаємодії та зв'язування нейрогіпофізарних гормонів з плазматичною мембраною клітини і модифікації ними ліпідного матриксу мембрани та цитолого-біохімічні ефекти такої модифікації дають підстави для наукової обґрунтованості використання гормонів в медичній практиці. Результати досліджень комбінованої дії нейрогіпофізарних гормонів, а також особливостей дії їх аналогів можуть бути використані при розробленні нових методів застосування фармакологічних препаратів, в цілеспрямованому синтезі нових біорегуляторів пептидної природи, в біотехнології та ін.

Результати роботи впроваджені в дослідницьку роботу лабораторії мембранології НДІ фізіології Київського університету, Інституту хімії поверхні, використовуються в навчальному процесі в Київському університеті ім.Тараса Шевченка та Медичному інституті Української асоціації народної медицини.

**Апробація роботи і публікації.** Матеріали дисертації доповідались і обговорювались на V Міжнародному симпозиумі "Smooth muscle" (Варна, 1988), симпозиумі "Нейрональные механизмы регуляции висцеральных органов и систем" (Томськ, 1989), Всесоюзному симпозиумі "Физиологическое и клиническое значение регуляторных пептидов" (Нижній Новгород, 1990); Всесоюзному симпозиумі "Одиночные

канали" (Кара-Даг - Пушино, 1990), Всесоюзному симпозиумі з хімії пептидів (Рига, 1990), симпозиумі СНД "Організм и среда" (Бухара, 1992); конференції "Актуальні проблеми фізіології" (Київ, 1992); міжнародній конференції "Нейрофармакологія на рубеже двух тысячелетий" (Санкт-Петербург, 1992); симпозиумі СНД "Физиология и патология моторной деятельности желудочно-кишечного тракта" (Томськ, 1992); Міжнародних читаннях "Біоколоїд'93" (Київ, 1993); І з'їзді Українського біофізичного товариства (Київ, 1994), симпозиумі "Биоритмы пищеварительной системы и гомеостаз" (Томск, 1994), Міжнародному конгресі - XXIII European Muscle Congress (Bochum, Germany, 1994).

За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових робіт.

**Об'єм і структура дисертації.** Робота викладена на 160 сторінках машинописного тексту, ілюстрована 18 рисунками і 12 таблицями. Дисертація включає вступ, огляд літератури, главу, присвячену матеріалам та методам дослідження, глави експериментальних досліджень та їх обговорення, висновки, список цитованої літератури, який містить 242 бібліографічних найменування.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження здійснювалися з використанням везикул плазматичних мембран (ПМ) міоцитів тонкого кишечника та саркоплазматичного ретикулуму (СР) скелетних м'язів безпорідних кролів, а також із застосуванням фосфатидилхолінових (ФХ) ліпосом та модельних моношарових мембран, сформованих з азолектину та з везикул ПМ.

Дослідження поверхневої активності пептидів та їх взаємодії з моношаровими мембранами проводили за допомогою установки, що складається з 2-х функціональних блоків: блоку реєстрації поверхневого тиску та блоку реєстрації граничного потенціалу. Вимірювання поверхневого тиску проводили за методом Вільгельмі [Адамсон, 1979] за допомогою напівзануреної платинової пластинки. Чутливість методу 0,1 мН/м. Граничний стрибок потенціалу, що виникає при появі моношару на поверхні субфази, вимірювали за методом динамічного конденсатора. Чутливість методу - 2 мВ.

В експерименті запис вказаних параметрів проводиться одночасно. За нульове значення приймаються параметри чистої поверхні розподілу фаз до нанесення поверхнево-активних речовин. Розчини пептидів вносили в об'єм субфази (0,01М КСl, 0,01М Трис-НСl, рН

7,4) за допомогою пристрою (насос Вернуллі), що запобігає безпосередньому їх попаданню на поверхню. Ліпідні моношари формували шляхом нанесення розчину ліпідів у хлороформі на поверхню субфази до досягнення необхідної величини двовірного тиску. Аналогічно наносили суспензію плазматичних мембран міоцитів.

Мас-спектрометрію розчинів пептидів проводили при іонізації зразків ( $10^{-2}$  М пептиду чи суміші пептидів в розчині вода-гліцерин - 1:2) швидкими атомами аргону за допомогою мас-спектрометра МХ-1330 за [Покровский и др., 1987]

Везикули саркоплазматичного ретикулуму з скелетних м'язів кроля, що містять фрагменти лонгітудальних цистерн, основним білковим компонентом яких є  $Mg^{2+}$ -залежна  $Ca^{2+}$ -АТФаза, виділяли диференційним центрифугуванням за [Буддыгерова, 1987; Ритов и др., 1982].

Активність  $Ca^{2+}$ -АТФази в везикулах саркоплазматичного ретикулуму визначали у середовищі: 0,1 М КСl, 5 мМ  $MgCl_2$ , 5 мМ АТФ, 5 мМ оксалату калію, 1 мМ  $CaCl_2$ , 10 мМ гістидину, рН 6,5, білок - 50 мкг/мл. Проби інкубували 5 хв при 37°C. Неорганічний фосфат визначали за [Fiske, Subbarow, 1925]

Ліпосоми готували з розчину яєчного фосфатидилхоліну у холеаті натрію (100 мМ КСl, 10% гліцерин, 0,1 мМ ЕДТА, 10 мг/мл холеат натрію, 10 мМ трис-НСl, рН 7,5 при 20°C, кінцева концентрація ліпідів 10 мг/мл) за допомогою діалізу проти трьох порцій середовища для розчинення фосфатидилхоліну без холеату натрію. Співвідношення об'ємів складало 1:30, час діалізу для кожної порції - 4-16 годин при постійному перемішуванні та  $t=4^{\circ}C$ .

Вимірювання транспорту  $Ca^{2+}$  здійснювали за інтенсивністю флуоресценції хлортетрацикліну (ХТЦ) (10 мкМ, довжина хвилі збудження 390 нм, випромінення - 540 нм) [Nagasaki, Kasai, 1980; Millman et al., 1980] на спектрофлуориметрі Hitachi SP850. Середовище інкубації містило 100 мМ КСl, 1,5 мМ  $MgCl_2$ , 1,5 мМ АТФ, 5 мМ креатинфосфат, 2-3 од. активності креатинкінази, 10 мМ НЕРЕС, рН 6,8 при 20°C. Вміст іонів  $Ca^{2+}$  у середовищі для реєстрації флуоресценції ХТЦ не перевищував 7 мкМ. Об'єм середовища інкубації 2 мл. Аналіз проводили в термостатованій кюветі з інтенсивним перемішуванням.

Виділення плазматичних мембран гладком'язових клітин тонкого кишечника кроля проводили за допомогою диференційного центрифугування в градієнті щільності сахарози з урахуванням розробок в цій області [Погребной, 1986; Рыбальченко, 1988; Слинченко, 1990].

Вміст білка в одержаному препараті визначали за методом Лоупі, модифікованим для визначення мембранозв'язаних білків [Peterson, 1977]. Чистоту мембранної фракції контролювали за активністю маркерних ферментів -  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази [Carsten, Miller, 1980], 5'-нуклеотидази [Matlieb et al., 1974], сукцинатдегідрогенази [Кривченкова, 1977], глюкозо-6-фосфатази [Bers, 1979] та за допомогою електронної мікроскопії [Рыбальченко, Коганов, 1988].

Визначення активності  $\text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+}$ -АТФази плазматичних мембран міоцитів тонкого кишечника кроля проводили в інкубаційному середовищі складу: 3 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 120 мМ  $\text{KCl}$ , 40 мМ  $\text{CaCl}_2$ , 1 мМ ЕДТА, 3 мМ АТФ, 0,1 мМ уабаїн, 50 мМ трис- $\text{HCl}$ , рН 7,2, білок - 100 мкг/мл середовища. Реакційну суміш інкубували при  $+37^\circ \text{C}$  протягом 10 хв. Реакцію зупиняли трихлороцтовою кислотою. Кількість неорганічного фосфату визначали за [Bencini et al., 1983].

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

### 1. Поверхнева активність пептидів.

Встановлено, що окситоцин (ОТ), вазопресин (ВП) та дезаміноокситоцин (ДОТ) мають власну поверхневу активність і при введенні у субфазу формують на її поверхні адсорбційні моношари, про що свідчить зростання значень граничного стрибка потенціалу (ГСП) та двомірного тиску ( $\Pi$ ) на поверхні розподілу фаз електроліт-повітря. Концентраційна залежність зміни значень поверхневого тиску та ГСП для трьох пептидів представлена на рис.1. Для ДОТ та ВП характерна наявність 2-х різних за інтенсивністю фаз адсорбції, для ОТ - 1. Інтенсивність фаз адсорбції охарактеризовано за величинами граничної адсорбції Гібса ( $\Gamma$ ) та питомої площі ( $S_1$ ), що припадає на 1 молекулу пептиду у моношарі. Ці величини розраховані за рівняннями: (1)  $\Gamma = 1/RT \cdot d\Pi/d(\ln C)$ , де  $\Gamma$  - рівень поверхневої адсорбції, поверхневий надлишок речовини, що адсорбується,  $C$  - її об'ємна концентрація ( $\text{M}/\text{m}^3$ ),  $R$  - газова стала,  $T$  - абсолютна температура,  $\text{K}^\circ$ , та (2)  $S_1 = 1/\Gamma \cdot N$ , де  $N$  - число Авогадро. В експерименті також встановлені інші параметри адсорбції пептидів: мінімальна концентрація, необхідна для початку утворення моношару ( $C_{\text{мін}}$ ), концентрація переходу від однієї фази адсорбції до другої ( $C_{\text{пер}}$ ), час встановлення стаціонарного стану у системі при внесенні кожної порції препарату ( $t_{\text{ст}}$ ) - табл.1.

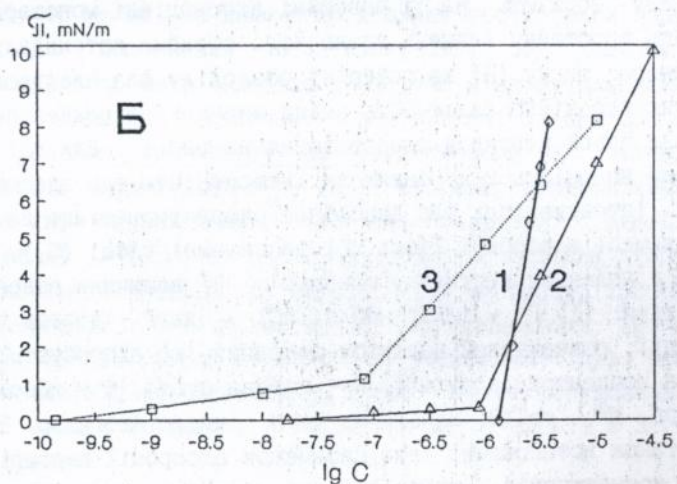
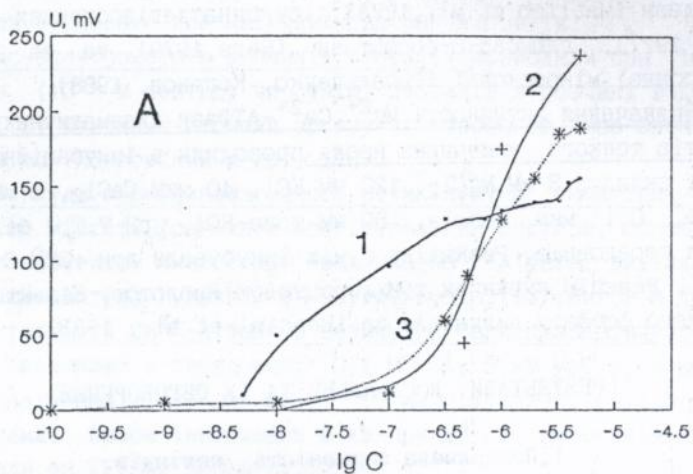


Рис.1. Зміна граничного стрибка потенціалу (А) та поверхневого тиску (В) при адсорбції пептидів на межі розподілу фаз 0,01 М КСl - повітря:

1 - окситоцин; 2 - вазопресин; 3 - деаміноокситоцин

Таблиця 1

Параметри адсорбції пептидів на вільній поверхні 0,01 М КСІ та при наявності на межі розподілу фаз моношару з азолектину або з ПМ міоцитів.

Комбі-нація	$C_{min}, M$	Рівень граничної адсорбції $\Gamma, M/M^2$	$S_i, nm^2$	$C_{пер}, M$	$t_{ст}, хв$
<u>На межі розподілу 0,01 М КСІ-повітря:</u>					
ОТ	$1,5 \cdot 10^{-6}$	$\Gamma = 3,10 \cdot 10^{-6}$	0,5	-	35-40
ВП	$1,8 \cdot 10^{-8}$	$\Gamma_I = 3,30 \cdot 10^{-8}$	49,9	$8,7 \cdot 10^{-7}$	30
		$\Gamma_{II} = 1,55 \cdot 10^{-6}$	1,1		60-100
ДОТ	$1,4 \cdot 10^{-10}$	$\Gamma_I = 7,95 \cdot 10^{-8}$	20,9	$8,2 \cdot 10^{-8}$	20-30
		$\Gamma_{II} = 1,36 \cdot 10^{-6}$	1,2		90-120
<u>При взаємодії з азолектиновим моношаром:</u>					
ОТ	$3,8 \cdot 10^{-8}$	$\Gamma_I = 2,24 \cdot 10^{-7}$	7,4	$5 \cdot 10^{-7}$	20
		$\Gamma_{II} = 1,31 \cdot 10^{-6}$	1,3		40-50
ВП	$3,0 \cdot 10^{-8}$	$\Gamma_I = 1,54 \cdot 10^{-7}$	10,8	$1,8 \cdot 10^{-6}$	25-30
		$\Gamma_{II} = 1,53 \cdot 10^{-6}$	1,1		100-140
д-ОТ	$2,3 \cdot 10^{-10}$	$\Gamma_I = 5,68 \cdot 10^{-8}$	29,3	$4,3 \cdot 10^{-8}$	15-20
		$\Gamma_{II} = 4,83 \cdot 10^{-7}$	3,4		30-40
<u>При взаємодії з моношаром, сформованим з ПМ міоцитів:</u>					
ОТ	$1,1 \cdot 10^{-9}$	$\Gamma_I = 1,73 \cdot 10^{-7}$	9,6	$5 \cdot 10^{-7}$	15-25
		$\Gamma_{II} = 7,39 \cdot 10^{-7}$	2,3		40-50
ВП	$1,2 \cdot 10^{-7}$	$\Gamma = 9,27 \cdot 10^{-7}$	1,8	-	50-60
д-ОТ	$1,1 \cdot 10^{-9}$	$\Gamma_I = 8,70 \cdot 10^{-8}$	19,2	$1 \cdot 10^{-6}$	20
		$\Gamma_{II} = 7,39 \cdot 10^{-6}$	1,5		70-90

Аналіз цих та інших даних експерименту, в тому числі і ізотерм стискування моношарів, дозволив зробити висновок, що хоча за кінетикою адсорбції більш подібними є ВП та ДОТ, структура та властивості адсорбційних моношарів більш близькі у окситоцину та його аналога дезаміноокситоцину.

## 2. Особливості взаємодії нейрогіпофізарних гормонів та дезаміноокситоцину з ліпідними моношарами.

Встановлено, що НГГ та дезаміноокситоцин мають високу спорідненість до моношарів азолектину, що є моделлю ліпідного матриксу ПМ, позбавленого білкових компонентів. Найбільш інтенсивна взаємодія пептидів спостерігається в діапазоні початкової щільності ліпідних моношарів 4-7 мН/м. Наявність ліпідного моношару сприяє адсорбції пептидів із субфази у нижчих початкових концентраціях. В перші 1-2 хв реєструється зростання ГСП (рис.2-А), потім відбуваються зміни поверхневого тиску у моношарі азолектину, що свідчить про вбудовування останніх між ліпідними молекулами. В процесі адсорбції ОТ, як і ДОТ та ВП, з'являється розподіл на 2 фази (рис.2-В). За мембранотропною активністю пептиди розташовуються у ряд: ДОТ > ОТ > ВП.

## 3. Взаємодія нейрогіпофізарних гормонів та дезаміноокситоцину з моношарами, сформованими з везикул плазматичних мембран.

Моношари, сформовані з везикул ПМ міоцитів тонкого кишечника кроля є модельною системою, більш наближеною до умов живої клітини. Крім того, в літературі поки що немає повідомлень про визначення існування на цих мембранах специфічних рецепторів НГГ.

Встановлено, що ліпопротеїновий моношар, сформований з ПМ також сприяє вбудовуванню молекул пептидів між ліпідними молекулами. Як і у випадку з чисто ліпідними моношарами, активність такої взаємодії є найвищою в інтервалі початкової щільності моношару 5-8 мН/м. Продемонстровано вбудовування молекул пептидів у ліпопротеїнові моношари (рис.3), сформовані з везикул ПМ, яке, за рахунок наявності мембранних білків відрізняється (у бік зниження) від аналогічного процесу на ліпідних моношарах (табл.1). Більш того, ВП навіть втрачає 2-фазність адсорбційного процесу. Наведений вище ряд ліпотропної активності - ДОТ > ОТ > ВП, збері-

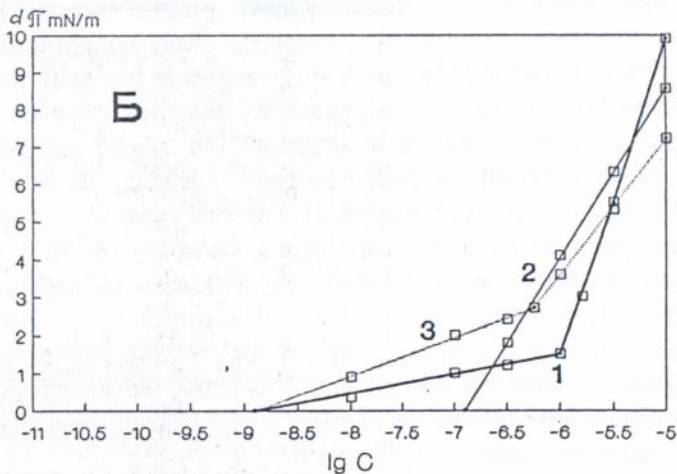
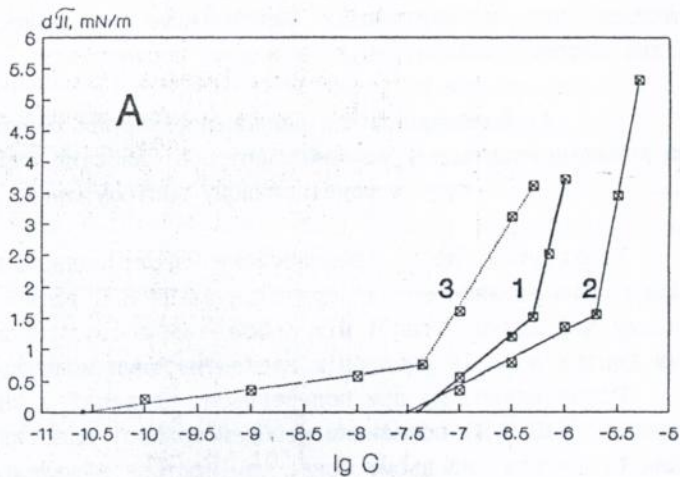


Рис.2. Концентраційна залежність зміни поверхневого тиску моношарів з азоектину (А) та з з ПМ міоцитів (Б) при адсорбції пептидів з субфази:

1 - окситоцин; 2 - вазопресин; 3 - дезаміноокситоцин

гається при концентраціях пептидів не вище мікромольних. При більш високих концентраціях він дещо порушується.

#### 4. Взаємний вплив нейрогіпофізарних гормонів та дезамінокситозину на мембранотропні властивості один одного при їх комбінованому застосуванні

Враховуючи, що в кровеносному руслі одночасно циркулюють різні біорегулятори, і функціонування НГГ тісно пов'язане як з іншими пептидами, так і між собою, ми дослідили взаємний вплив цих пептидів на їх адсорбцію азолектиновими моношарами

Встановлено, що при попередньому введенні у систему одного з пептидів ( $10^{-8}$  М) показники мембранотропної властивості пептиду, який вводиться на цьому фоні, змінюються в залежності від того, який пептид використовувався як "фоновий" (табл.2). Д-ОТ сприяє вбудовуванню обох НГГ у азолектинові моношари у концентраціях, що є на порядок нижчими, ніж у його відсутності, за рахунок чого подовжується перша, "низькоактивна" стадія адсорбції, а також знижує час встановлення стаціонарного стану модифікованого моношару, проте і інтенсивність адсорбції гормонів на фоні дОТ (за коефіцієнтом Гіббса  $\Gamma$ ) також знижена на обох стадіях цього процесу. Особливо виражений такий вплив дОТ на процес адсорбції ОТ.

Застосування в ролі "фонового" пептиду ВП або ОТ, навпаки, збільшує коефіцієнт адсорбції другого гормону, проте, уповільнює встановлення стаціонарного стану (хоча обидва ці показники змінні у незначній мірі - табл.2) і приблизно на порядок збільшує мінімальну концентрацію, у якій починається реестрація вбудовування досліджуваного пептиду. При цьому інтенсифікується зростання ГСП в області низьких концентрацій пептиду, що свідчить про інтенсивну взаємодію пептиду в області гідрофільних полярних головок ліпідного моношару.

Якби подібні ефекти спостерігалися у фізіологічних експериментах, очевидно, був би зроблений висновок про конкурентне зв'язування двох пептидів із специфічними рецепторними сайтами. Проте, в наведених експериментах відбувається взаємодія пептидів лише з ліпідною фазою. Отже, цілком вірогідно, що деякі експериментальні результати, з яких зроблено висновки про існування специфічних сайтів нейрогіпофізарних гормонів в тих чи інших клітинах чи тканинах, насправді можуть бути викликаними та поясненими саме

Таблиця 2

Параметри адсорбції окситоцину та вазопресину на азолектиновому моношарі при їх самостійній дії і у комбінації з попередньо введеними пептидами

Комбі-нація	$C_{min}, M$	Рівень граничної адсорбції $\Gamma, M/M^2$	$S_i, nm^2$	$C_{пер}, M$	$T_{ст}, хв$
OT	$3,8 \cdot 10^{-8}$	$\Gamma_I = 2,242 \cdot 10^{-7}$	7,4	$5 \cdot 10^{-7}$	20
		$\Gamma_{II} = 1,310 \cdot 10^{-6}$	1,27		40-50
д-OT+OT	$3,9 \cdot 10^{-9}$	$\Gamma_I = 5,390 \cdot 10^{-8}$	30,8	$3,8 \cdot 10^{-7}$	5-15
		$\Gamma_{II} = 5,356 \cdot 10^{-7}$	3,1		20-40
ВП+OT	$2,3 \cdot 10^{-7}$	$\Gamma_I = 7,547 \cdot 10^{-7}$	2,2	$2 \cdot 10^{-6}$	20-30
		$\Gamma_{II} = 1,426 \cdot 10^{-6}$	1,2		50-60
ВП	$3,0 \cdot 10^{-8}$	$\Gamma_I = 1,54 \cdot 10^{-7}$	10,8	$1,8 \cdot 10^{-6}$	25-30
		$\Gamma_{II} = 1,53 \cdot 10^{-6}$	1,1		100-140
д-OT+ВП	$1 \cdot 10^{-9}$	$\Gamma_I = 8,122 \cdot 10^{-8}$	20,5	$3 \cdot 10^{-7}$	20
		$\Gamma_{II} = 3,360 \cdot 10^{-6}$	0,49		100-150
OT+ВП	$5 \cdot 10^{-7}$	$\Gamma = 7,02 \cdot 10^{-6}$	0,24	-	150-300

мембранотропними властивостями гормонів.

Мас-спектрометричне дослідження еквімолярних сумішей пептидів у гліцериновій матриці свідчить, що у таких сумішах пептиди не впливають на структуру один одного, не утворюють кластерів і комплексів. Отже, це може бути підтвердженням того, що адсорбція одного з пептидів викликає зміни властивостей ліпідного матриксу, через що змінюються параметри адсорбції на ньому іншого пептиду.

#### 5. Вплив пептидів на процеси транспорту іонів $Ca^{2+}$ у везикулах саркоплазматичного ретикулулу скелетних м'язів кроля та фосфатидилхолінових ліпосомах

Для більш глибокого вивчення дії НГГ на мембранні структури,

було досліджено їх вплив на процеси виходу іонів  $\text{Ca}^{2+}$  з везикул саркоплазматичного ретикулуму (СР), де також не має специфічних рецепторів до цих біорегуляторів, та з ФХ-ліпосом.

Встановлено, що в діапазоні концентрацій  $10^{-10}$  -  $10^{-4}$  М ВП експоненціально знижує ефективність транспорту іонів  $\text{Ca}^{2+}$  (кількість іонів  $\text{Ca}^{2+}$ , що транспортується однією молекулою  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази через мембрану внаслідок гідролізу однієї молекули АТФ [Ритов, 1971; Волдырев, Мельгунов, 1985]) (рис.3). Відносна величина флуоресценції проникаючого зонду хлортетрацикліну (ХТЦ) в процесі АТФ-залежного накопичення іонів  $\text{Ca}^{2+}$  везикулами СР в присутності ВП також зменшується експоненціально із збільшенням концентрації ВП. Проте на активність  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ВП в досліджуваному діапазоні концентрацій практично не впливає. Отже, зменшення ефективності транспорту іонів  $\text{Ca}^{2+}$ , очевидно, обумовлене збільшенням проникності мембран СР під дією ВП.

Для підтвердження локалізації ділянки витоку іонів  $\text{Ca}^{2+}$  в ліпідному матриксі СР проаналізовано за допомогою ХТЦ вміст іонів  $\text{Ca}^{2+}$  у навантажених  $\text{Ca}^{2+}$  ФХ-ліпосомах в присутності ВП і ОТ.

Встановлено, що ВП практично в однаковій мірі збільшує проникність для  $\text{Ca}^{2+}$  як мембран ліпосом, так і мембран СР, що підтверджує збільшення проникності під дією ВП саме ліпідного бішару мембран. У наведених експериментах препарати мембран вносили у середовище, яке вже містило ВП, що не виключає трансмембранного транспорту ВП під дією осмотичного шоку з подальшою локалізацією пептиду у внутрішньому просторі замкнених мембранних структур або в гідрофобному ліпідному матриксі. В тому випадку, коли ВП вносився в середовище, що вже містило мембрани, зміни концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  всередині мембранних пухирців були менш значними. При цьому способі введення пептиду не відбувається його трансмембранного переносу, тому що до цього часу склад зовнішнього та внутрішнього середовища мембранних пухирців врівноважений, і пептид є локалізованим переважно з зовнішнього боку мембрани (рис.4).

При дослідженні впливу ОТ на ФХ-ліпосоми одержана інша концентраційна залежність. Вихід іонів  $\text{Ca}^{2+}$  реєструється, починаючи з концентрації ОТ  $10^{-13}$  М. При досягненні концентрації гормону  $10^{-9}$  М інтенсивність флуоресценції складає лише 14% від початкової (рис.4). Якщо ж ОТ додавали після внесення ліпосом, коли, очевидно, не відбувається трансмембранний перенос пептиду за рахунок осмотичних явищ, він не викликав суттєвих змін у вмісті іо-

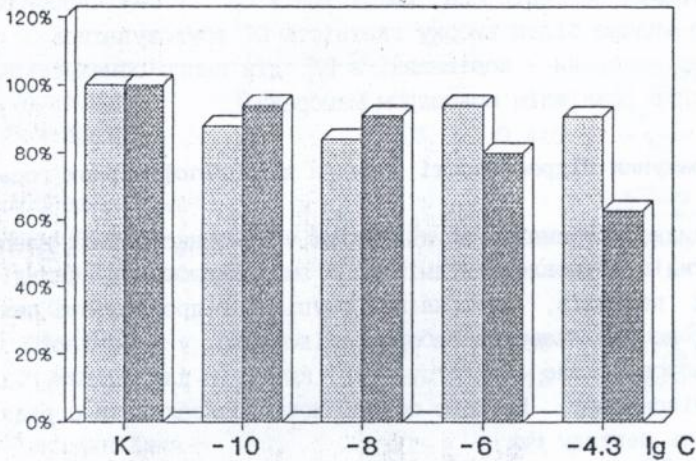


Рис.3. Активність  $\text{Ca}^{2+}$ -АТРази саркоплазматичного ретикулуму (■) та зміна флуоресценції ХТЦ в процесі транспорту іонів  $\text{Ca}^{2+}$  везикулами СР (■) в присутності вазопресину.

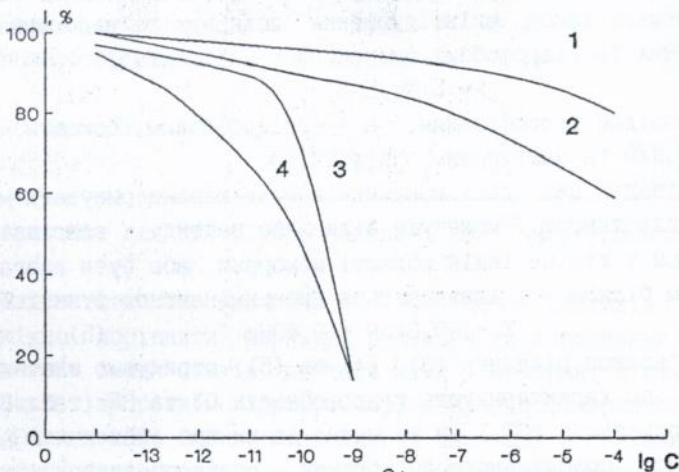


Рис.4. Залежність вмісту іонів  $\text{Ca}^{2+}$  у фосфатидилхолінових ліпосомах, виміряного за флуоресценцією хлортетрацикліну, від концентрації вазопресину (1,2) та окситоцину (3,4).  
1,3 - пептиди додавали у середовище після внесення ліпосом  
2,4 - пептиди додавали у середовище до внесення ліпосом

нів  $\text{Ca}^{2+}$  при концентраціях  $10^{-13}$ - $10^{-10}$  М. Проте наявність у середовищі інкубації  $10^{-9}$ М окситоцину вело до такого ж зниження флуоресценції ХТЦ, як і при попередньому способі його введення.

Така значна різниця в концентраційній залежності впливу двох досліджуваних пептидів на вміст іонів  $\text{Ca}^{2+}$  у ФХ-ліпосомах свідчить про значно більш високу здатність ОТ вбудовуватись в ліпідний бішар мембрани у порівнянні з ВП, дія якого обмежується, очевидно, лише зовнішнім моношаром мембрани.

## 6. Розрахунки гідрофобності молекул нейрогіпофізарних гормонів

Очевидно, отримані нами відміни у мембранотропних властивостях пептидів обумовлені відмінами в амінокислотному складі досліджених пептидів, а, точніше, ступінню гідрофобності пептидних молекул, що визначається набором амінокислот у її складі. У 60-х роках запропоновано [Tanford, 1962] критерій для оцінки гідрофобності амінокислот. На його основі можна розрахувати середню гідрофобність пептиду  $N\theta$ :

$$N\theta = \sum \Delta G^i_{\text{пер}} \cdot X_i \quad (3),$$

де  $\Delta G^i_{\text{пер}}$  - вільна енергія переносу для амінокислотного залишку  $i$ -го типу, а  $X_i$  - мольна доля останнього у даному пептиді.

Для розширення інформації про властивості пептидної молекули використовують також співвідношення полярних та неполярних, або гідрофільних та гідрофобних амінокислот у її складі:

$$R = \sum X_k / \sum X_j \quad (4),$$

де  $k$  відповідає гідрофільним, а  $j$  - гідрофобним боковим групам (або полярним та неполярним, відповідно).

Комбінація цих двох показників може характеризувати мембранотропні властивості молекули білка або пептиду - властивість її знаходитися у тій чи іншій області мембрани або бути взагалі немембранним білком - і визначається дискримінантною функцією:

$$Z = -0,345R + 0,60N\theta \quad (5)$$

Розв'язавши рівняння (3), (4) та (5), отримуємо значення параметрів, що характеризують гідрофобність ОТ та ВП (табл.3)

Що стосується ДОТ, ми не маємо даних про значення  $\Delta G_{\text{пер}}$  для залишку Цис, позбавленого аміногрупи, проте очевидно, що втрата даної групи, яка несе позитивний заряд у розчині, збільшує, у порівнянні із звичайним Цис, ступінь гідрофобності залишку, а разом із ним і всієї молекули ДОТ у порівнянні з природним ОТ.

Таблиця 3

Порівняння розрахованих значень параметрів гідрофобності для ОТ та ВП з середніми відповідними значеннями інших білків\*

Пептид, білки	R	H <sub>0</sub>	Z	Схематичне зображення
Окситоцин	0,5	1,410	0,673	
Вазопресин	0,8	1,193	0,448	
205 немембранних білків	1,26	0,996	0,16	
24 мембранних білки:				
внутрішні	0,59	1,197	0,52	
зовнішні	1,37	0,986	0,12	
Родопсин бика		1,208	0,51	
Вілок пурпурної мембрани		1,247	0,56	
Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> -АТФаза:				
Велика субодина.		1,248	0,42	
Мала субодина		1,309	0,44	
Ацетилхолін-естераза		1,059	0,25	

\* значення для цих білків наведені за [Кантор,Шиммел,1984]

Для остаточного висновку про розміщення пептидів у мембрані необхідно порівняти отримані значення із значеннями аналогічних параметрів інших білків, позиція яких у мембрані відома. Як видно з табл.3, за рівнем гідрофобності нейрогіпофізарні гормони ОТ та ВП (а також ДОТ) можна поставити в один ряд з білками, які розташовуються безпосередньо у глибині мембранного матриксу, і розподілити їх за зростанням гідрофобності в ряду: ДОТ > ОТ > ВП, що співпадає із розподілом цих пептидів за інтенсивністю їх інкорпорації в гідрофобну зону модельних мембран.

## 7. Аналіз поверхневої активності структурних аналогів нейрогіпофізарних гормонів

Гідрофобність є значним, але не єдиним фактором, що визначає мембранотропні властивості пептидів. З метою визначення ролі заряджених амінокислотних залишків та довжини амінокислотного ланцюга в прояві мембранотропної активності пептидів, ми дослідили поверхневу активність та мембранотропні властивості деяких синтетичних аналогів ВП.

Синтетичні аналоги ВП - тетрапептид вазопресину-(2-5) (ТП), дез-9-гліцин-/8-аргінін/вазопресину (ДГ-АВП), (8-аргінін)вазопресиніл-гліцил-лізил-аргініну (ВП-ГЛА) - відрізняються від природного гормону довжиною пептидного ланцюга та кількістю заряджених амінокислотних залишків у молекулі. Ці пептиди виявляють дуже низьку специфічну гормональну активність, проте справляють помітний вплив на процеси в ЦНС [Папсуевич и др., 1986].

Параметри гідрофобності аналогів, розраховані, як описано вище, а також залежність зміни ГСП при утворенні моношарів нейрогіпофізарних гормонів та аналогів від наявності зарядів та їх кількості у пептидних молекулах представлені в табл. 4. Як бачимо, існує закономірність між значенням ГСП та кількістю зарядів в молекулі. Аналогічна залежність спостерігається і при адсорбції пептидів на азолектинових моношарах.

Таблиця 4

Параметри гідрофобності, сумарний заряд молекул пептидів та значення ГСП моношарів, утворених при адсорбції цих пептидів на межі розподілу 0,01 М КСl-повітря при різних їх концентраціях

Пептид	Параметри гідрофобності:			сумарний заряд	ГСП	
	R	N <sub>z</sub>	Z		C, M: 1·10 <sup>-6</sup> 5·10 <sup>-6</sup>	
ОТ	0,5	1,410	0,673	+1	+130	+155
ВП	0,8	1,193	0,448	+2	+175	+240
ТП	1	1,343	0,640	0	+11	+18
ВП-ГЛА	1	1,347	0,643	+3	+146	+210
ДГ-АВП	1	1,082	0,403	0	+15	+18

В здатності аналогів ВП змінювати поверхневий тиск системи також спостерігаються певні особливості, не пов'язані тільки з рівнем гідрофобності (табл. 5). Досліджені аналоги мають в різній

Таблиця 5  
Параметри адсорбції аналогів вазопресину на межі розподілу фаз 0,01 М КСl-повітря

Система	$\Gamma, \text{M}/\text{M}^2$	$S_i, \text{nm}^2$	$C_{\text{min}}$
ТП	$1,63 \cdot 10^{-7}$	10,2	$1,2 \cdot 10^{-7}$
ВП-ГЛА	$1,04 \cdot 10^{-6}$	1,6	$1,6 \cdot 10^{-6}$
ДГ-АВП	$5,9 \cdot 10^{-7}$	2,8	$3,2 \cdot 10^{-7}$

мірі знижені (у порівнянні з природними гормонами) поверхневу активність та мембранотропні властивості. Максимальна поверхнева активність серед них виявлена у ВП-ГЛА, гідрофобність якого найнижча, проте сумарний заряд його молекули складає +3. ТП та ДГ-ВП з однаковим сумарним зарядом (0) та гідрофобністю, але різною довжиною молекули мають різну здатність до утворення моношарових структур - у 4-членного ТП вона нижча, ніж у октапептиду ДГ-ВП.

Таким чином, поверхнева та мембранотропна активність НГТ визначається не тільки загальною гідрофобністю їх молекул - для прояву цих властивостей мають також значення величина заряду і довжина молекул.

#### 8. Дослідження регуляторного впливу пептидних гормонів на активність $\text{Mg}^{2+}$ , $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази міоцитів тонкого кишечника кроля

8.1. Характеристика отриманої фракції ПМ. За даними електронної мікроскопії, отримана мембранна фракція складається з замкнених везикул з середнім діаметром 350 нм. Біохімічний контроль (за активністю маркерних ферментів) свідчить про достатню очистку препарату від інших мембранних фракцій.

Із застосуванням додецилсульфату натрію на прикладі  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази показано, що співвідношення активності цього ферменту до і після внесення детергенту складає 0,460. Це дозволяє зро-

бити висновок, що правильно орієнтовані везикули ПМ (цитоплазматичною поверхнею всередину) складають приблизно 46%, решта припадає на долю "вивернутих" везикул.

8.2. Вплив пептидів на активність  $Mg^{2+}, Ca^{2+}$ -АТФази міоцитів. Раніше [Рибальченко В.К. та ін., 1987] в нашій лабораторії були отримані дані, що свідчать про специфічну блокуючу дію фізіологічних концентрацій ОТ на активність  $Mg^{2+}, Ca^{2+}$ -АТФази міоцитів тонкого кишечника кроля в умовах, що виключають попередню взаємодію гормону із специфічними рецепторами на зовнішній поверхні мембран. Тобто, ОТ здатний, очевидно, безпосередньо взаємодіяти з молекулою АТФази, або оточуючими її анулярними ліпідами. Ми припустили, що подібні властивості притаманні також і ВП та дОТ.

Активність АТФази в інтактних мембранах (100% активності) дорівнювала в середньому  $192,1 \pm 32,5$  нМ  $P_H$ /мг білка·хв ( $n=10$ ). Введення в інкубаційне середовище пептидів викликало дозозалежне зниження активності АТФази (рис.5). В цілому блокуюча дія ВП проявляється при його концентраціях на 2-3 порядки вищих, ніж ОТ. Крім того, ОТ при концентрації  $10^{-4}$  М повністю блокував активність АТФази, тоді як при дії ВП максимальне пригнічення (при концентрації  $10^{-4}$  М) складало 66%.

Найбільш виражену пригнічуючу дію на активність  $Mg^{2+}, Ca^{2+}$ -АТФази ПМ міоцитів справляє дОТ. Вже у концентрації  $10^{-16}$  М блокування ферменту складало 11%, що співпадає з дією ОТ у цій же концентрації. Але подальше збільшення пептиду в інкубаційному середовищі значно пригнічує активність АТФази. Блокування половини АТФазної активності відбувається при концентрації дОТ близько  $10^{-13}$  М, що на 2 порядки нижче концентрації ОТ з аналогічним ефектом. При введенні в інкубаційне середовище  $10^{-7}$ - $10^{-5}$  М дОТ АТФазна активність практично не реєструється. Таким чином, за наростанням блокуючої дії пептиди можна розташувати в такий ряд: дОТ > ОТ > ВП, що відповідає ряду зростання їх гідрофобної (S6) та ліпотропної (S2,3) активності.

8.3. Вплив тривалого зберігання фракції ПМ на ефективність пептидів щодо активності  $Mg^{2+}, Ca^{2+}$ -АТФази. В частині препаратів при їх тривалому зберіганні в замороженому стані (протягом кількох місяців) активність  $Mg^{2+}, Ca^{2+}$ -АТФази зберігалася на високому рівні. Проте при цьому значно зменшилася чутливість ферменту до пригнічуючої дії ВП та дОТ (рис.6). У випадку ВП навіть при концентраціях пептиду  $10^{-5}$ -  $10^{-6}$  М пригнічування не перевищує 15 %.

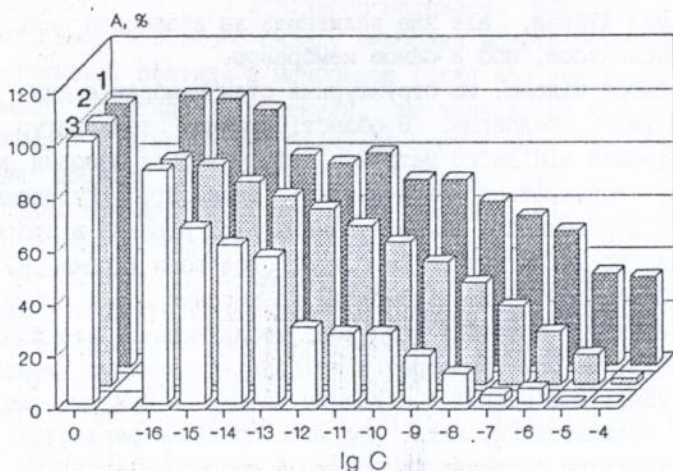


Рис.5. Пригнічення активності  $Mg^{2+}, Ca^{2+}$ -АТФ-ази міоцитів під дією вазопресину (1), окситоцину (2), та дезаміноокситоцину (3).

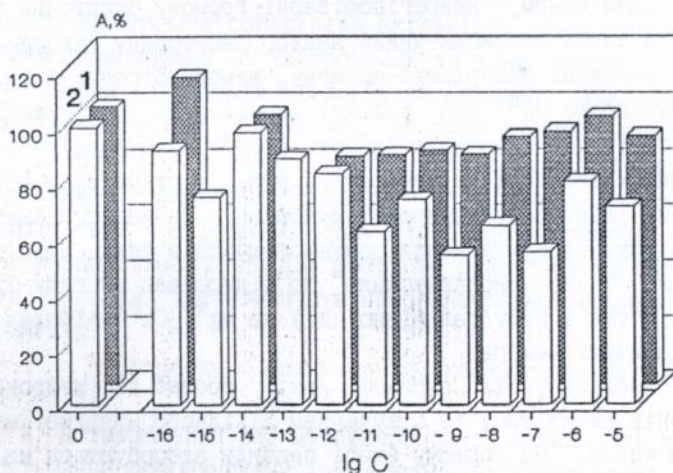


Рис.6. Вплив вазопресину (1) та дезаміноокситоцину (2) на активність  $Mg^{2+}, Ca^{2+}$ -АТФ-ази в препаратах плазматичних мембран міоцитів після їх тривалого зберігання (6 місяців).

При дії дОТ середній рівень пригнічування складає 20-30%. Можливо, такий ефект пов'язаний з якимисьь структурними змінами мембран в процесі зберігання, які ще не викликають змін у функціонуванні молекули АТФази, але вже впливають на взаємодію пептидів або з цією молекулою, або з самою мембраною.

Добре відомо, що структурний стан мембран є дуже чутливим до зміни умов середовища. В області низьких температур змінюється організація ліпідного матриксу, відбувається фазовий розподіл ліпідів, порушуються білок-ліпідні взаємодії [Гулевский и др., 1988], в результаті заморожування-відігрівання в протеоліпосомах суттєво збільшується об'єм гідрофобної зони [Дюбо, 1994].

Отже, щоб точно відповісти на питання про природу виявленого нами ефекту, потрібні додаткові дослідження. Але й ці наші дані свідчать, що при тривалому зберіганні плазматична мембрана міоцитів губить пов'язаний з ліпідним матриксом фактор, що забезпечує ефект пептидних гормонів, або може придбати невластиві для нативної структури фактори, що блокують процес зв'язування.

\* \* \*

Таким чином, нейрогіпофізарні гормони окситоцин та вазопресин, а також високоактивний аналог окситоцину дезаміноокситоцин мають виражені поверхнево-активну, мембранотропні і гальмівні (по відношенню до  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ -АТФази) властивості, які виявляються при адсорбції цих пептидів на межі розподілу фаз електроліт-повітря та при їх взаємодії з мембранами різного ступеню організації (моношари, ліпосоми, природні мембрани). За наростанням мембранотропної активності пептиди розташовуються в ряд: вазопресин < окситоцин < дезаміноокситоцин, що відповідає як ряду їх гідрофобності, так і ряду гальмівної дії на  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ -АТФазну активність плазматичних мембран.

Аналізуючи всі отримані дані, процес дії нейрогіпофізарних гормонів на клітину із залученням ліпідного матриксу можна уявити таким чином. На першому етапі пептиди адсорбуються на плазматичній мембрані за рахунок електростатичних взаємодій з полярними ліпідними головками. В експериментах про це свідчить зміна граничного стрибка потенціалу на межі розподілу фаз при значно менших концентраціях, ніж необхідно для реєстрації зміни поверхневого тиску, і за значно коротший час, що вимірюється секундами. На

наступному етапі, в залежності від фізико-хімічних особливостей пептидної молекули відбувається більш чи менш глибоке занурення її в гідрофобну зону ліпідного матриксу. Виходячи з цього, та з врахуванням ліпідного складу мембрани можуть бути різні результати взаємодії пептиду з мембраною (один або декілька): зміна конформації пептидної молекули, що приведе до більш ефективної її взаємодії з відповідним білковим специфічним рецептором; полегшення доступу до гідрофобних ділянок рецепторів; утворення в мембрані іон-провідних структур; безпосередня взаємодія з мембранозв'язаними ферментами (наприклад, АТФазами) або іншими (G-білки, фосфоліпаза С, протеїнкіназа С) мембранними білками; локальна зміна фізико-хімічного стану ліпідного матриксу, що, з одного боку, може привести до зміни активності мембранних ферментів, а з іншого - до активування внутріклітинних процесів через безпосередній вплив на мембранні компоненти - продуценти внутріклітинних месенджерів.

#### ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що нейрогіпофізарним гормонам та дезаміноокситоцину притаманна поверхнева активність, вони взаємодіють з ліпідними моношарами і ліпосомами та з моношаровими структурами, сформованими із фракцій біологічних мембран. Така взаємодія характеризується двома етапами: на першому етапі пептиди адсорбуються на поверхні мембрани за рахунок електростатичних взаємодій з полярними головками ліпідів, на другому - молекули пептидів імплантуються в гідрофобну зону ліпідного матриксу. Другий етап також розподіляється на дві фази, що різняться за своєю інтенсивністю. Загальна інтенсивність мембранотропної активності пептидів має вигляд:

вазопресин < окситоцин < дезаміноокситоцин.

2. Встановлений ряд мембранотропної активності підтверджений теоретичними розрахунками параметрів гідрофобності досліджених пептидів. За цими параметрами окситоцин та дезаміноокситоцин відповідають білкам, що розташовуються в гідрофобній зоні ліпідного матриксу, а вазопресин - в зоні гідрофільних головок і гідрофобній зоні, що прилягає до гідрофільної.

3. В прояві поверхневої та мембранотропної активності пептидів поряд з загальною гідрофобністю пептидної молекули мають значення також як її довжина та кількість іоногенних груп, так і попередня модифікація пептидами ліпідного матриксу мембрани. Про останнє свідчать зміни мембранотропних властивостей одного з пептидів при взаємодії з мембраною, яка була попередньо модифікована іншим пептидом. Ці зміни не є аддитивними.

4. Мас-спектри індивідуальних пептидів і їх еквімолярних сумішей свідчать, що у сумішах пептиди зберігають свої властивості і не утворюють кластерних структур. Зроблено висновок, що зміни мембранотропних ефектів при комбінованому застосуванні пептидів викликаються дією попередньо введеного пептиду на властивості ліпідного моношару, через що змінюються характеристики адсорбції.

5. Окситоцин в наномолярних, а вазопресин в мікромольних концентраціях достовірно збільшують іонну проникність фосфатидилхолінових ліпосом. Вазопресин збільшує проникність везикул саркоплазматичного ретикулуму скелетних м'язів до іонів  $Ca^{2+}$  за рахунок збільшення іонної проникності ліпідного бішару мембран.

6. Нейрогіпофізарні гормони та дезаміноокситоцин є інгібіторами мембранозв'язаного ферменту  $Mg^{2+}, Ca^{2+}$ -АТФази міоцитів тонкого кишечника кроля. Інтенсивність такої гальмівної дії пептидів розподіляється в ряд, що є аналогічним ряду їх мембранотропної активності:

вазопресин < окситоцин < дезаміноокситоцин.

До  $Ca^{2+}$ -АТФази саркоплазматичного ретикулуму нейрогіпофізарні гормони є індиферентними.

7. Отримані експериментальні дані з урахуванням даних сучасної літератури дають можливість стверджувати важливу роль ліпідного матриксу плазматичної мембрани у сприйнятті, класифікації та трансформації сигналів пептидних біорегуляторів. Завдяки взаємодії молекул пептидів і молекул ліпідного матриксу та, як наслідок цього, їх взаємоіндукованим конформаційним змінам може реалізуватися поліпотентна - як рецепторна, так і безрецепторна - дія пептидних біорегуляторів.

Основні публікації за темою дисертації

1. Рыбальченко В.К., Островская Г.В., Кучеренко Н.Е. Взаимодействие окситоцина с липидами искусственных и биологических мембран // Бюл.эксп.биол.и мед. 1989. Т.102. N 12. С.681-683.
2. Рибальченко В.К., Ксьонжек О.С., Гевод В.С., Островська Г.В. Поверхнева активність окситоцину//Доп. АН УССР. Сер.Б. 1989. N 12. С. 63-66.
3. Рибальченко В.К., Островська Г.В., Омельченко О.М., Пастух А.В. Потенціалозалежні окситоцинові канали в функціонально активному комплексі "біомолекулярна мембрана - плазматична мембрана гладком'язової клітини"//Доп.АН УРСР. 1990. Сер.Б. N 8. С.73-76.
4. Островская Г.В., Шевченко С.И., Могилевич В.Р., Рыбальченко В.К. Поверхностная активность вазопрессина и его взаимодействие с искусственными и биологическими мембранами//Бюл.экспер.биол. и мед. 1992. Т.113. N 11. С.470-473.
5. Могилевич В.Р., Рибальченко В.К., Островська Г.В. Аналіз первинних механізмів зв'язування субстанції Р та окситоцину з ліпідними моношарами//Мол.генетика і біофізика. 1992. Вип.17. С.60-63.
6. Рыбальченко В.К., Могилевич В.Р., Островская Г.В. Роль липидного матрикса плазматической мембраны в процессе передачи информации регуляторными пептидами//Бюл.экспер.биол.и мед. 1993. Т.114. N 5. С.477-478.
7. Могилевич В.Р., Островська Г.В., Рибальченко В.К. Інформаційні аспекти взаємодії регуляторних пептидів з клітинними мембранами//Физиологический журнал. 1993. Т.39. N 5-6. С.86-92.
8. Pokrovskiy V.A., Galagan N.P., Ostrovskaya G.V., Rybalchenko V.K. FAB-mass-spectrometry of neurohypophysial hormones and deamino-oxytocin//Rap.Commun.Mass Spectrom. 1995. Прийнято до друку.
9. Ostrovskaya G.V., Rybalchenko V.K. Plasma membrane of smooth muscle cell. II. New data on interaction with oxytocin//V Int. Symp. "Smooth muscle", Varna, 1988. P.97.
10. Rybalchenko V.K., Ostrovskaya G.V. Regulation of transporting  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ -ATPase of plasma membranes of myocytes of small intestine by neurohypophysial peptides//XXIII Europ. Muscle Congress, Bochum, 11-14 Sept. 1994. 08/10 P.

Островская Г.В. Роль мембранотропных эффектов в механизмах биологического действия нейрогипофизарных гормонов.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.00.11 - эмбриология, гистология и цитология; 03.00.04 - биохимия, Киевский университет имени Тараса Шевченко, Киев, 1995.

Защищается 20 научных работ, которые содержат результаты исследований поверхностно-активных свойств и мембранотропных эффектов нейрогипофизарных гормонов и дезаминокситоцина. Установлены цитолого-биохимические эффекты этих биорегуляторов, обусловленные безрецепторным механизмом их связывания с мембранными структурами разного уровня организации. Эти эффекты четко коррелируют с поверхностной активностью пептидов и по интенсивности проявления составляют ряд: дезаминокситоцин > окситоцин > вазопрессин.

Ostrovskaya G.V. The role of membranotropic effects in the mechanisms of biological action of neurohypophysial hormones.

The thesis for obtaining Ph.D. degree in biological sciences on specialities: 03.00.11 - embryology, histology and cytology; 03.00.04 - biochemistry, Taras Shevchenko University, Kiev, 1995.

20 papers containing results of researches of surface active properties and membranotropic effects of neurohypophysial hormones and deaminoxytocin are presented for Ph.D degree. The cyto-biochemical effects of these bioregulators, which are stipulated by non-receptor mechanism of its binding with the membrane structures of different organizational levels, have been determined. These effects clearly correlate with surface activity of peptides and form the range of action intensity: deaminoxytocin > oxytocin > vasopressin.

Ключові слова: нейрогіпофізарні гормони, дезамінокситоцин, поверхнева активність, плазматична мембрана, ліпідний матрикс,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ -АТФаза

Надруковано у Медичному інституті  
Української асоціації народної медицини  
252004, Київ, вул. Льва Толстого, 9.

448755

