



УДК 612.014.42:612.31

ВПЛИВ $I\Phi_3$ НА АТФ-АЗНУ АКТИВНІСТЬ МЕМБРАННИХ ВЕЗИКУЛ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ПІСЛЯ ПЕРФУЗУВАННЯ ПЕЧІНКИ ІНСУЛІНОВІСНИМ РОЗЧИНОМ

С. В. Бичкова, Т. І. Чорна

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: s.bychkova@gmail.com*

Вивчали дію $I\Phi_3$ на Ca^{2+} -, Na^+ , K^+ -АТФ-азну і базальну Mg^{2+} -АТФ-азну активність мембранних везикул гепатоцитів щурів у контролі та після перфузування печінки інсуліновмісним розчином. Виявлено, що у контролі $I\Phi_3$ підвищує питому Ca^{2+} -АТФ-азну активність на $(56 \pm 13)\%$ ($P < 0,05$, $n = 6$) та базальну Mg^{2+} -АТФ-азну активність на $(52 \pm 10)\%$ ($P < 0,01$, $n = 6$). Після попередньої перфузії печінки інсуліновмісним розчином, додавання $I\Phi_3$ до мембранних везикул гепатоцитів щурів викликало зростання лише базальної Mg^{2+} -АТФазної активності на $(68 \pm 12)\%$ ($P \leq 0,01$, $n = 5$). $I\Phi_3$ не змінює питомої активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази ні у контролі, ні після перфузування печінки інсуліновмісним розчином. Разом з тим, перфузія печінки інсуліновмісним розчином запобігає зростанню Ca^{2+} -АТФ-азної активності під впливом $I\Phi_3$ і не впливає на зростання базальної Mg^{2+} -АТФ-азної активності за дії $I\Phi_3$.

Ключові слова: $I\Phi_3$, АТФ-азна активність, гепатоцити щура.

ВСТУП

Йони Ca^{2+} відіграють важливу роль у передачі зовнішньоклітинних сигналів у гепатоцитах та у формуванні клітинної відповіді на ці сигнали. Вони вважаються вторинними посередниками дії ряду гормонів, таких як вазопресин, глюкагон, ангіотензин II та ін. [5, 9]. Вважають, що інсулін не належить до Ca^{2+} -мобілізуючих гормонів, однак численними дослідженнями встановлено, що рівень внутрішньоклітинного кальцію у гепатоцитах щурів за дії інсуліну суттєво змінюється [7, 12, 14]. Показано [12], що рецептори інсуліну переносяться у ядро, де ініціюють $I\Phi_3$ -опосередковані Ca^{2+} -сигнали. Нами встановлено, що перфузія печінки інсуліновмісним розчином викликає зростання депонованого кальцію і змінює на протилежний вплив $I\Phi_3$ на цей показник у пермеабілізованих гепатоцитах щурів [2]. Такий вплив інсуліну на кальцієвий гомеостаз гепатоцитів реалізується за рахунок стимулювання Ca^{2+} - та Na^+ , K^+ -АТФ-азної активності їхніх мембран [4]. Крім того, ми виявили, що перфузія печінки інсуліном перешкоджає впливові ріанодину на АТФ-азну активність мембран [4]. У гепатоцитах ріанодин-індуковане вивільнення Ca^{2+}

підсилює вивільнення Ca^{2+} , спричинене IP_3 [16]. Оскільки IP_3 -індуковане вивільнення Ca^{2+} вважається ключовим механізмом генерування кальцієвих сигналів у гепатоцитах, то, ми ставили за мету дослідити вплив IP_3 на АТФ-азну активність мембран гепатоцитів щурів і зміну цього впливу за дії інсуліну.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили на нелінійних щурах обох статей масою 0,18–0,2 кг. Усі роботи з тваринами проводили згідно з Міжнародною конвенцією роботи з тваринами і Законом України „Про захист тварин від жорстокого поводження”.

Після ефірного наркозу тварин декапітували. Ізольовану печінку поміщали у чашку Петрі з розчином, який містив у ммоль/л: NaCl – 140,0; KCl – 4,7; CaCO_3 – 1,3; MgCl_2 – 1,0; HEPES – 10,0; глюкозу – 10,0; $\text{pH} = 7,4$. На наступному етапі проводили перфузування $\frac{1}{2}$ печінки інсуліном („Монодар”) (0,04 МО), який додавали до вказаного розчину і шприцом нагнітали у тканину печінки впродовж 10 хв. Решту печінки (контроль) перфузували лише цим розчином. Його ж використовували для відмивання печінки від перфузії. Охолоджену тканину подрібнювали, пропускаючи через прес. До подрібненої тканини додавали буферний розчин (1:8 у масовому співвідношенні) і подрібнювали в гомогенізаторі Поттера-Евельгейма при швидкості 300 об/хв у трис- HCl -буфері (50 ммоль/л, $\text{pH} 7,4$). Фракцію мікросом гепатоцитів одержували диференційним центрифугуванням, суть якого полягає у проведенні серії послідовних центрифугувань суміші органел і мембранних фрагментів після гомогенізування тканини. Надосадову рідину після осадження ядер і мітохондрій, що містила переважно плазматичні та ретикулярні мікросоми, розділяли на аліквоти і використовували в експерименті або зберігали за температури -20°C .

Визначення АТФ-азної активності мембран гепатоцитів щурів. На початку експерименту аліквоти мембранних везикул розморожували та переносили у стандартне середовище інкубації без АТФ, яке містило (у ммоль/л): NaCl – 50,0; KCl – 100,0; трис- Cl – 20,0 ($\text{pH}=7,4$, $t=37^\circ\text{C}$); MgCl_2 – 3,0; CaCl_2 – 0,01. АТФ-гідролазну реакцію ініціювали додаванням 3 ммоль/л АТФ та інкубували проби протягом 15 хв при 37°C та помірному струшуванні у водяному ультратермостаті. Для активування IP_3 -чутливих Ca^{2+} -каналів (IP_3Rs) вивільнення кальцію до суспензії мікросом додавали інозитол-1,4,5 трифосфат (IP_3) у концентрації 10 мкмоль/л. Після завершення інкубації реакцію зупиняли додаванням 5 мл 10% трихлороцтової кислоти (ТХО), витримували проби 10 хв і центрифугували при 1600 g протягом 10 хв. Одержану безбілкову надосадову рідину використовували для визначення в ній вмісту неорганічного фосфору за методом Фіске-Суббароу [8]. Перед завершенням інкубування відбирали по 0,4 мл середовища інкубування для визначення вмісту білка за методом Лоурі [10]. Активність АТФ-аз мембран гепатоцитів розраховували за різницею вмісту P_i у середовищах різного складу та виражали у мкмоль P_i в перерахунку на 1 мг білка на 1 год. Сумарну АТФ-азну активність мікросом визначали у стандартному Ca^{2+} - та Mg^{2+} -вмісному середовищі інкубації. Для визначення питомої Na^+ , K^+ -АТФ-азної активності з сумарної АТФ-азної активності вираховували АТФ-азну активність мікросом у середовищі, яке містило 1 ммоль/л оубаїну, тобто сумарну Ca^{2+} та Mg^{2+} -АТФ-азні активності мембран гепатоцитів щурів. Для визначення питомої Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-азної активності розраховували різницю

між сумарною Ca^{2+} , Mg^{2+} - та Na^+ , K^+ -АТФ-азними активностями. Питому Mg^{2+} -АТФ-азну активність визначали у середовищі інкубування, що містило 1 ммоль/л ЕГТА за відсутності $CaCl_2$ і наявності 1 ммоль/л оубаїну. В усіх дослідях контролем на неферментативний гідроліз АТФ було реакційне середовище, в яке не додавали мікросом. Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох експериментальних сукупностей даних визначали коефіцієнт Стьюдента, а вірогідними вважали зміни при рівні значущості $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Вважають, що у гепатоцитах Na^+ , K^+ -АТФ-аза є маркером для базолатеральної мембрани [6]. У клітинах сітківки показано тісне розташування між Na^+ , K^+ -АТФ-азою плазматичної мембрани та IP_3Rs , що формують просторово-організовані мікродомени, які забезпечують взаємозв'язок між плазматичною мембраною та внутрішньоклітинними депо кальцію [11]. Такі сигнальні мікродомени можуть функціонувати і без розчинних посередників за рахунок тісних білок-білкових взаємодій [11]. Проте ми не виявили (рис. 1) безпосередньої взаємодії між активуванням IP_3Rs та Na^+ , K^+ -АТФ-азою суспензії мікросом гепатоцитів, яка б могла опосередковуватися за участю інших Ca^{2+} -транспортувальних систем. Це виглядає закономірним за умов експериментів на мікросомальній фракції. Разом з тим не виключено, що в межах інтактної клітини ці транспортувальні системи можуть співіснувати.

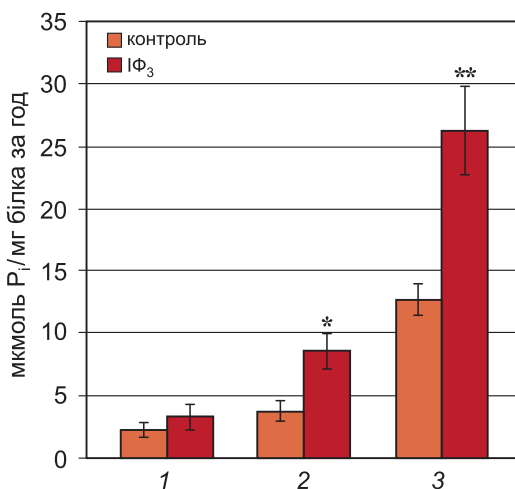


Рис. 1. АТФ-азна активність мембран гепатоцитів щурів за дії IP_3 : 1 – Na^+ , K^+ -АТФ-азна активність (контроль – $2,26 \pm 0,57$; за дії IP_3 – $3,31 \pm 1,02$, $n = 6$); 2 – Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-азна активність (контроль – $3,75 \pm 0,86$; за дії IP_3 – $8,57 \pm 1,42$, $n = 6$, * – $P \leq 0,05$ щодо контролю); 3 – базальна Mg^{2+} -АТФ-азна активність (контроль – $12,26 \pm 1,28$; за дії IP_3 – $26,24 \pm 3,56$, $n = 6$, ** – $P \leq 0,01$ щодо контролю)

Fig. 1. Effect of IP_3 on ATPase activity of rat hepatocytes membrane: 1 – Na^+ , K^+ -ATPase activity (control – 2.26 ± 0.57 ; IP_3 action – 3.31 ± 1.02 , $n = 6$); 2 – Ca^{2+} -ATPase activity (control – 3.75 ± 0.86 ; IP_3 action – 8.57 ± 1.42 , $n = 6$, * – $P \leq 0.05$ change is statistically significant relative to control solution); 3 – basal Mg^{2+} -ATPase activity (control – 12.26 ± 1.28 ; IP_3 action – 26.24 ± 3.56 , $n = 6$, ** – $P \leq 0.01$ change is statistically significant relative to control solution)

За дії ріанодину [4] як активатора ріанодинчутливих каналів вивільнення кальцію у гепатоцитах, так само і під впливом перфузії печінки інсуліновмісним розчи-

ном [4], питома Na^+, K^+ -АТФ-азна активність суттєво зростала. Отже, ефект $\text{I}\Phi_3$ відрізняється від такого за дії ріанодину чи інсуліну. Це вказує на існування відмінностей у спрямованості АТФ-залежних процесів, що зумовлені активуванням різних типів каналів вивільнення кальцію.

Питома Ca^{2+} -АТФ-азна активність за дії $\text{I}\Phi_3$ статистично достовірно збільшується на $(56 \pm 13)\%$ ($P < 0,05$, $n = 5$). Такий ефект $\text{I}\Phi_3$ також відрізняється від впливу ріанодину, який достовірно не змінював питому активність Ca^{2+} -АТФ-аз мембран гепатоцитів щурів [4]. Це може вказувати на відмінність у розташуванні каналів вивільнення кальцію: очевидно, що IP_3Rs локалізуються на мембранах ЕПР, багатих Ca^{2+} -помпами. У той же час ріанодинчутливі кальцієві канали, як ми й припускали раніше, головним чином, представлені в іншому Ca^{2+} -вмісному депо, яким може бути ендосомний апарат гепатоцитів [4]. Разом з тим не можна стверджувати, що за дії $\text{I}\Phi_3$ активуються лише Ca^{2+} -АТФ-ази ЕПР, оскільки ми не використовували їх специфічного блокатора – тапсигаргін. Тому виявлений ефект може відображати сумарну Ca^{2+} -АТФ-азну активність як тих транспортувальних систем, що розташовані у ЕПР, так і тих із них, що розміщені у ПМ.

Виявлено, що вплив $\text{I}\Phi_3$ на мембранні везикули гепатоцитів щурів викликає статистично достовірне зростання базальної Mg^{2+} -АТФ-азної активності $(52 \pm 10)\%$ ($P < 0,01$, $n = 6$). Цей ефект цілком відтворює дію ріанодину на активність вищезгаданої транспортувальної системи [4], що може вказувати на важливе її значення у активуванні різних типів каналів вивільнення кальцію з депо. Слід зазначити, що її функціональну роль, як і локалізацію остаточно не встановлено. Не виключено, що ця АТФ-аза може бути залучена в регуляції вмісту протонів у поза- чи внутрішньоклітинному просторах [3]. Саме ця транспортувальна система є маркером для каналікулярної (*canalicular*) мембрани гепатоцитів [6], а також функціонує в ендосомному апараті гепатоцитів, який містить АТФ-керовану протонну помпу [13]. В інтактних гепатоцитах акумулювання кальцію в ацидофільному депо здійснює $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -обмінник. Активування базальної Mg^{2+} -АТФ-ази за дії $\text{I}\Phi_3$ вказує на те, що IP_3Rs розміщені або у тих самих, або у близькоспоріднених мембранах, тому що лише їхня спільна локалізація передбачає, що транспортувальна система, залучаючи інші Ca^{2+} -залежні переносники, може активуватися під впливом кальцію локально вивільненого за дії $\text{I}\Phi_3$.

Отже, $\text{I}\Phi_3$ збільшує сумарну АТФ-азну активність мембран везикул щурів за рахунок зростання загальної Ca^{2+} -АТФ-азної активності і базальної Mg^{2+} -АТФ-азної активності та не впливає на Na^+, K^+ -АТФ-азну активність. Ми припускаємо, що IP_3Rs локалізовані у мембранах ЕПР або/і комплексу Гольджі поблизу ендосомного апарату чи навіть у мембранах самих ендосом.

Раніше нами було встановлено, що перфузія печінки інсуліном змінює на протилежний вплив $\text{I}\Phi_3$ на вміст депонованого кальцію у пермеабілізованих гепатоцитах щурів [2]. Тому доцільно було дослідити, як змінюється дія $\text{I}\Phi_3$ на АТФ-азну активність мембран гепатоцитів щурів після перфузування печінки інсуліновмісним розчином. Ми виявили (рис. 2), що питомий вклад різних систем активного транспортування йонів у загальну АТФ-азну активність за дії $\text{I}\Phi_3$ після перфузування печінки інсуліном зазнає змін щодо його впливу у контролі. $\text{I}\Phi_3$ не впливає на питому Ca^{2+} -АТФ-азну активність мембран, одержаних після перфузування печінки інсуліновмісним розчином. Так само й дія інсуліну на фоні впливу $\text{I}\Phi_3$ достовірно не впливає на питому Ca^{2+} -АТФ-азну активність мембран гепатоцитів щурів. Це вка-

зує на важливу роль цієї транспортувальної системи у реалізації впливу інсуліну на кальцієвий гомеостаз, а також у взаємодії Ca²⁺-помп з IP₃Rs. Очевидно, після інтерналізації рецепторів інсуліну відбувається перерозподіл депонованого кальцію між ЕПР, комплексом Гольджі та ендосомним апаратом, а також іншими Ca²⁺-вмісними органелами гепатоцитів (мітохондріями та ядерною оболонкою). У свою чергу, зростання вмісту кальцію в ЕПР змінює вплив ІФ₃ на IP₃Rs і на вивільнення ними кальцію [2], а опосередковано – й на активність Ca²⁺-помп.

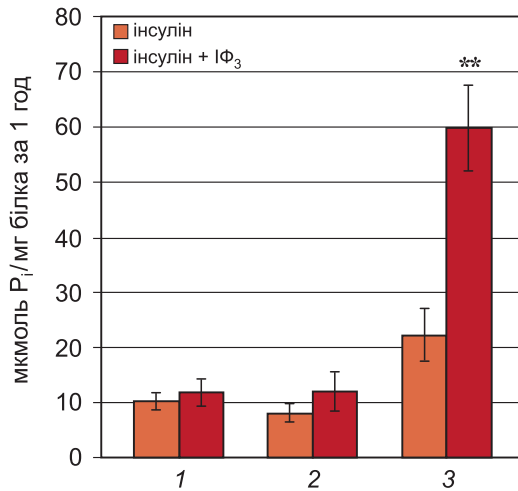


Рис. 2. Вплив перфузії печінки інсуліновмісним розчином на АТФ-азну активність мембран гепатоцитів щурів за дії ІФ₃: 1 – Na⁺, K⁺-АТФ-азна активність (інсулін – 10,22±1,58; за дії ІФ₃ на фоні інсуліну – 11,71±2,41, n = 5); 2 – Ca²⁺, Mg²⁺-АТФ-азна активність (інсулін – 7,99±1,69; за дії ІФ₃ на фоні інсуліну – 11,89±3,54; 3 – базальна Mg²⁺-АТФ-азна активність (інсулін – 22,26±4,73; за дії ІФ₃ на фоні інсуліну – 59,89±7,79, n = 5, ** – P ≤ 0,01 щодо інсуліну)

Fig. 2. Effect of IP₃ on ATPase activity of rat hepatocytes membrane after liver perfusion with insulin-containing solution: 1 – Na⁺, K⁺-ATPase specific activity (insulin – 10.22±1.58; action IP₃ after insulin – 11.71±2.41, n = 5); 2 – Ca²⁺-ATPase specific activity (insulin – 7.99±1.69; action IP₃ after insulin – 11.89±3.54, n = 5); 3 – basal Mg²⁺-ATPase activity (insulin – 22.26±4.73; action IP₃ after insulin – 59.89±7.79, n = 5, ** – P ≤ 0.01 change is statistically significant relative to insulin)

Виявлено, що питома Na⁺, K⁺-АТФ-азна активність за дії ІФ₃ на везикули, одержані після перфузії печінки інсуліновмісним розчином, достовірно не змінюється. Крім того, ІФ₃ запобігає зростанню активності цього ферменту, що було виявлено нами раніше під впливом перфузії печінки інсуліновмісним розчином [4].

Питомий вклад базальної Mg²⁺-АТФ-азної активності за дії ІФ₃ на везикули, одержані після перфузії печінки інсуліновмісним розчином, є вищим, ніж у контролі (везикули, отримані після перфузування печінки інсуліном, що не зазнавали дії ІФ₃), на (68±12)% (P ≤ 0,01, n = 5). Це означає, що перфузія печінки інсуліновмісним розчином не лише не перешкоджає дії ІФ₃ на активність цього ферменту, а навіть дещо посилює його.

Отже, після перфузування печінки інсуліновмісним розчином за дії ІФ₃ має місце зростання загальної АТФ-азної активності, що реалізується у збільшенні питомого внеску лише базальної Mg²⁺-АТФ-азної активності. Перфузія печінки інсуліновмісним розчином запобігає зростанню Ca²⁺-АТФ-азної активності під впливом ІФ₃ і не впливає на зростання базальної Mg²⁺-АТФ-азної активності за дії ІФ₃.

Одержані результати, а також дані іншої роботи [4], дають змогу припустити, що кальцій, вивільнений під впливом $I\Phi_3$, активує сусідні до IPRs Ca^{2+} -помпи ЕПР чи/ї ПМ, базальну Mg^{2+} -АТФазу ендосомного апарату гепатоцитів, чи каналікулярної мембрани. Він також акумулюється мітохондріями [1]. Залишається незрозумілим механізм зростання базальної Mg^{2+} -АТФ-азної активності за дії $I\Phi_3$. Можна припускати, що він опосередкований активуванням інших систем активного транспорту йонів, можливо Ca^{2+}/H^+ -обмінником. Саме ця транспортна система, як вважають, функціонує у ацидофільних депо гепатоцитів. Ми також вважаємо, що перфузування печінки інсуліновмісним розчином запобігає $I\Phi_3$ -індукованому зростанню активності Ca^{2+} -АТФ-аз за рахунок зниження чутливості цих транспортувальних систем до змін концентрації кальцію у цитозолі. Адже після перфузування печінки інсуліновмісним розчином, як було нами попередньо встановлено [2], відбувається збільшення наповнення цим йоном внутрішньоклітинних депо.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що за дії $I\Phi_3$ на мембранні везикули печінки щурів зростає Ca^{2+} -і базальна Mg^{2+} -АТФ-азна активність і не зазнає змін питома активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази. Після перфузування печінки інсуліновмісним розчином за дії $I\Phi_3$ виявлено суттєве підвищення активності лише базальної Mg^{2+} -АТФ-ази.

1. Бичкова С.В. Вікові особливості взаємодії між внутрішньоклітинними Ca^{2+} -транспортними системами пермеабілізованих гепатоцитів щурів. **Вісник Львів. ун-ту. Сер. Біол.**, 2008; 48: 146–152.
2. Бичкова С.В. Вплив інсуліну на функціонування внутрішньоклітинних Ca^{2+} -транспортних систем пермеабілізованих гепатоцитів щурів. **Вісник Львів. ун-ту. Сер. Біол.**, 2009; 49: 174–181.
3. Костерін С.О., Векліч Т.О., Прилуцький Ю.І. та ін. Кінетичне тлумачення рН-залежності ферментативної активності «базальної» Mg^{2+} -АТФ-ази сарколеми гладенького м'язу. **Укр. біохім. журнал**, 2005, 77(6): 37.
4. Чорна Т.І., Бичкова С.В. Вплив ріанодину на АТФ-азну активність мембран гепатоцитів щурів після перфузування печінки інсуліновмісним розчином. **Вісник Львів. ун-ту. Сер. Біол.**, 2011; 55: 170–178.
5. Barritt G.J., Chen J., Rychkov G.Y. Ca^{2+} -permeable channels in the hepatocyte plasma membrane and their roles in hepatocyte physiology. **Biochimica et Biophysica Acta**, 2008; 1783(5): 651–672.
6. Blitzer B.L., Hostetler B. R., Scott K. A. Hepatic adenosine triphosphate-dependent Ca^{2+} transport is mediated by distinct carriers on rat basolateral and canalicular membranes. **J. Clin. Invest**, 1989; 83: 1319–1325.
7. Benzeroual K., van de Werve G., Meloche S. et al. Insulin induces Ca^{2+} influx into isolated rat hepatocyte couplets. **Am. J. Physiol**, 1997; 272 (6: Pt 1): G1425–1432.
8. Fiske C. H., SubbaRow Y. The colometric determination of phosphorus. **J. Biol. Chem**, 1925; 66: 375–400.
9. Gaspers L.D., Thomas A.P. Calcium signaling in liver. **Cell Calcium**, 2005; 38(3–4): 329–342.
10. Lowry J. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L. et al. Protein measurements with the folic phenol reagent. **J. Biol. Chem**, 1951; 193(1): 265–275.
11. Miyakawa-Naito A., Uhlen P., Lal M. et al. Cell signaling microdomain with Na^+, K^+ -ATPase and inositol 1,4,5-trisphosphate receptor generates calcium oscillations. **J. Biol. Chem**, 2003; 278(50): 50355–50361.

12. *Rodrigues M.A., Gomes D. A., Andrade V. A.* et al. Insulin induces calcium signals in the nucleus of rat hepatocytes. **Hepatology**, 2008; 48(5): 1621–1631.
13. *Saermark T., Flint N., Evans W.H.* Hepatic endosome fractions contain an ATP-driven proton pump. **Biochem. J**, 1985; 225 (1): 51–58.
14. *Strunecka A.* Cytosolic free Ca²⁺ level in isolated hepatocytes: the effect of insulin. **Gen. Physiol. Biophys**, 1985; 4(5): 505–516.
15. *van de Put F.H., Visser G.J., Donkers E.A.* et al. Basal Mg²⁺-dependent ATPase activity of rat liver microsomes is not influenced by ambient free Ca²⁺. **Eur. J. Biochem**, 1993; 218 (3): 959–962.
16. *Pierebon N., Renard-Rooney D.C., Gaspers L.D.* et al. Ryanodine Receptors in liver. **J. Biol. Chem**, 2006; 281(45): 34086–34095.

INFLUENCE OF IP₃ ON ATPASE ACTIVITY OF RAT HEPATOCYTES MEMBRANE VESICLES AFTER PERFUSION OF LIVER BY INSULIN-CONTAINING SOLUTION

S. Bychkova, T. Chorna

*Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: s.bychkova@gmail.com*

The influence of IP₃ on Ca²⁺-, Na⁺,K⁺-ATPase and basal Mg²⁺-ATPase activity of rat hepatocytes membranes was studied in control and after perfusion of liver by insulin-containing solution. It was established that in control, IP₃ increased specific activity of Ca²⁺-ATPase by (56 ± 13)% (P < 0.05, n = 6) and basal Mg²⁺-ATPase by (52 ± 10)% (P < 0.01, n = 6). After perfusion of liver with insulin-containing solution, it was found that application of IP₃ to membrane vesicles of hepatocytes caused only increase in basal Mg²⁺-ATPase activity by (68 ± 12)% (P ≤ 0.01, n = 5). IP₃ did not cause changes in Na⁺,K⁺-ATPase specific activity in control, or after liver perfusion by the insulin-containing solution. At the same time the perfusion of liver by the insulin-containing solution prevented IP₃-induced increase specific activity of Ca²⁺-ATPase and no effect on IP₃-induced increase in the activity of basal Mg²⁺-ATPase.

Keywords: IP₃, ATPase activity, rat hepatocytes, insulin.

ВЛИЯНИЕ ИФ₃ НА АТФ-АЗНУЮ АКТИВНОСТЬ МЕМБРАННЫХ ВЕЗИКУЛ ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС ПОСЛЕ ПЕРФУЗИРОВАНИЯ ПЕЧЕНИ ИНСУЛИНОСОДЕРЖАЩИМ РАСТВОРОМ

С. В. Бычкова, Т. И. Чорна

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: s.bychkova@gmail.com*

Изучали действие ИФ₃ на Ca²⁺-, Na⁺,K⁺-АТФ-азную и базальную Mg²⁺-АТФ-азную активность мембранных везикул гепатоцитов крыс в контроле и после перфузирования печени инсулиносодержащим раствором. Установлено, что в контроле ИФ₃ увеличивает удельную Ca²⁺-АТФ-азную активность на (56 ± 13)% (P < 0,05,

n = 5) и удельную базальную Mg^{2+} -АТФ-азную активность на $(52 \pm 10)\%$ ($P < 0,01$, n = 6). После предварительного перфузирования печени инсулиносодержащим раствором добавление IF_3 к мембранным везикулам гепатоцитов крыс вызывало возрастание только удельной активности базальной Mg^{2+} -АТФазы на $(68 \pm 12)\%$ ($P \leq 0,01$, n = 5). Установлено, что IF_3 не изменяет удельной активности Na^+, K^+ -АТФ-азы ни в контроле, ни после перфузирования печени инсулиносодержащим раствором. Однако оказалось, что перфузирование печени инсулиносодержащим раствором предотвращает увеличение Ca^{2+} -АТФ-азной активности под действием IF_3 и не влияет на увеличение под влиянием IF_3 базальной Mg^{2+} -АТФ-азной активности.

Ключевые слова: IF_3 , АТФ-азная активность, гепатоциты крыс.

Одержано: 01.02.2012