

Криовлияние экзогенного криопротектора на динамику гормон-стимулированных изменений трансмембранного потенциала изолированных гепатоцитов крыс при оценке флуоресцентным методом

М.Ю. МАЛЮКИНА, Н.С. КАВОК, И.А. БОРОВОЙ
Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины, г. Харьков

Cryoeffect of Exogenous Cryoprotectant on Dynamics of Hormone-Stimulated Changes in Transmembrane Potential of Isolated Rat's Hepatocytes Estimated With Fluorescent Method

M.YU. MALYUKINA, N.S.KAVOK, I.A. BOROVY
Institute For Scintillation Materials of National Academy of Science of Ukraine, Kharkov

Трансмембранный потенциал изолированных гепатоцитов крыс оценивали методом флуоресцентной микроскопии по интенсивности флуоресценции производных цианиновых зондов. Было показано, что наиболее чувствительным оптическим индикатором потенциала является синтезированный зонд H-510/C2. На модели гормон-индуцированных изменений потенциала была определена возможность оценки динамики процесса. С помощью данного подхода был установлен двухфазный характер изменений мембранного потенциала при воздействии на клетки адреналина (10^{-6} М) и альфа-адреноагониста фенилэфрина (10^{-5} М). Было показано, что временной характер процесса зависит от участия в его регуляции различных сигнальных механизмов. Поскольку в литературе имеются сведения о влиянии экзогенного криопротектора диметилсульфоксида (ДМСО) на механизмы клеточного ионного трансмембранного транспорта, в настоящей работе изучали особенности краткосрочного гормонального воздействия на трансмембранный потенциал в присутствии ДМСО. Для оценки воздействия криопротектора на механизмы клеточной регуляции применяли ДМСО в двух концентрациях: 2 и 8%. Стимулирующий эффект фенилэфрина на фоне меньшей концентрации ДМСО сохранялся на первой фазе клеточного ответа и отсутствовал на второй. При действии токсической концентрации криопротектора действие альфа-агониста полностью блокировалось. Полученные данные свидетельствуют о влиянии экзогенного криопротектора на начальные этапы сигнальной трансдукции. Примененный подход позволяет не только оценить направленность процесса, но и выделить отдельные этапы, контролируемые разными механизмами.

Transmembrane potential of isolated rat's hepatocytes has been estimated by fluorescent microscopy on fluorescence intensity of cyanine dye derivatives. It was shown that the most sensible optical indicator of the potential was the synthesized H-510/C2 probe. The possibility of estimation of process dynamics has been found in the model of hormone-induced changes of potential. The diphasic character of membrane potential changes at adrenaline effect (10^{-6} M) and alpha-adrenoagonist effect (10^{-5} M) has been established by this method. It has been shown that temporal character of the process depends on participation of different signal mechanisms in its regulation. Since the literature data show the influence of exogenous cryoprotectant dimethyl sulfoxide (DMSO) on the mechanisms of cellular ionic transmembrane transport, in this research there were studied the features of short-term hormonal influence on transmembrane potential in DMSO presence. To estimate an influence of cryoprotectants on the mechanisms of cellular regulation, DMSO was applied under two concentrations, 2% and 8%. The stimulating effect of phenylephrine was kept in the first phase of cellular response and was absent in the second one on a background of lower DMSO concentration. The effect of alpha-agonist was completely blocked under influence of toxic concentration of the cryoprotectant. The findings testify to an influence of exogenous cryoprotectant at initial stages of signal transduction. The applied approach allows not only the estimation of process orientation, but also the selection of certain stages, controlled by different mechanisms.