

V. Kolomiychuk, Dr., Associate Prof.
O.V. Fomin Botanical Garden, Education and Science Center "Institute of Biology and Medicine",
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
M. Shevera, Dr., Associate Prof.
M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine,
E. Vorobyov, Researcher
Chernobyl Radiation and Ecological Biosphere Reserve, Ivankiv, Ukraine,
O. Orlov, Dr., Associate Prof.
Poliskiy Branch of Ukrainian Scientific-Research Institute of Forestry and Agro-Forest Amelioration
named after G.M. Vysotskiy of NAS of Ukraine and State Agency of Forestry of Ukraine, Zhytomyr, Ukraine,
O. Pryadko, Dr.
Holosiivsky national nature park, Kyiv, Ukraine

ERECHTITES HIERACIFOLIA (L.) RAF. EX DC. (ASTERACEAE BERCHT. & J. PRESL), NEW FOR THE KYIV POLISSIA ALIEN SPECIES

Information about floristic record of *Erechtites hieracifolia* (L.) Raf. ex DC. (Asteraceae Bercht. & J. Presl) at the territory of the Chernobyl Radiation and Ecological Biosphere Reserve and National Nature Park "Holosiivsky", new for the Kyiv Polyssia alien species was presented. This species has north american origin, according to the time of arrival it is kenophyte, according to the skidding method – xenophyte, on naturalization level – kolonophyte. Firstly in the region of study this species was collected in 2018 in vicinities of former village Ilovnitsa (northern part of the village) of Ivankov district of Kyiv Oblast. Later, in 2019 *E. hieracifolia* was noted in two another sites of biosphere reserve (vicinities of former village Klyvyny of Ivankiv District, Kyiv Region and former village Kamianka of the same administrative units). Total revealed more than 60 species plants, in vegetative state (prevailed) and also in generative state. Plants were noted sporadically on forest edges and roads in composition of unformed plant communities. In 2019 this species was also found on the territory of National Nature Park "Holosiivsky" (Sviatoshin-Bilychi branch) where individuals of the species were found singly or in small groups (5–10 plants). In total, 60 plants of *E. hieracifolia* were noted here. Probably they came to the study region recently – some years ago, skid occurred on high roads which plants used as wind corridors flanked by forests, and also on local ways; it is possible that diaspores distribution is carried out also by birds. Schematic map of species distribution in the region was presented. Data about primary and secondary areas of the *E. hieracifolia*, its ecological and coenotic peculiarities were presented. The main stages of history of skidding and further distribution of the investigated species in Ukraine were reconstructed; the main directions of its distribution is connected with northern and western regions of the country. Currently, the species tends to actively spread into another regions of Ukraine. In Europe it belongs to invasive species and demands control of spread.

Key words: *Erechtites hieracifolia*, species of alien plants, floristic record, Kyiv Polyssia, Ukraine.

УДК 577.352; 576.342

О. Котик, мол. наук. співроб., А. Котлярова, канд. біол. наук, ст. наук. співроб.,
О. Ісаєва, д-р біол. наук, пров. наук. співроб., С. Марченко, д-р біол. наук
Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ, Україна

ВПЛИВ ДЕЯКИХ АНЕСТЕТИКІВ ТА ПРИРОДНИХ ОТРУТ НА ФУНКЦІОНУВАННЯ LCC-КАНАЛІВ ЯДЕРНОЇ МЕМБРАНИ КАРДІОМІОЦИТІВ ТА НЕЙРОНІВ ПУРКІНЬС МОЗОЧКА

Вивчення фармакологічної чутливості катіонних каналів ядерної мембрани до дії анестетиків і природних отрут є актуальним, оскільки раніше показано, що деякі модулятори N-холінорецепторів (дитилін та атракуріум), які змінюють функціональну активність високопровідних катіонних каналів (LCC-каналів) застосовуються в медицині під час проведення хірургічних втручань. Також певні ін'єкційні форми токсинів, виділених з отрути змії, використовують як препарати з анальгезивною дією. Саме тому метою роботи було перевірити фармакологічну чутливість LCC-каналів до дії міорелаксантів та анестетиків (мідокалму, дипрофолу) і природних отрут (нейротоксину II, α -Кобратоксину). Вплив перелічених речовин оцінювали на основі змін біофізичних параметрів функціонування LCC-каналів ядерної мембрани кардіоміоцитів і нейронів Пуркінє мозочка. Іонні струми крізь ці канали реєстрували методом петч-клемп у конфігурації nucleus-attached або excised patch у режимі фіксації потенціалу. Нами встановлено, що мідокалм (2 ммоль/л), дипрофол (2 ммоль/л) та α -Кобратоксин (1 ммоль/л) у декілька разів зменшували ймовірність перебування каналів у відкритому стані (P_o). За дії високих концентрацій (1–2 ммоль/л) мідокалму та α -Кобратоксину спостерігали ефект "миготіння" каналів, що свідчить про блокування пори каналу у його відкритому стані. Водночас, під впливом NT II (25 мкмоль/л) середня амплітуда K^+ -струму крізь LCC-канали достовірно зменшилася на 13 % порівняно з контролем. Отримані результати стануть підґрунтям для пошуку нових ефективніших інгібіторів LCC-каналів, які будуть перспективними для використання як інструмента при дослідженні молекулярної динаміки, механізмів регуляції, фізіологічної ролі і структури цих каналів.

Ключові слова: LCC-канали, ядерна мембрана, анестетики, природні отрути.

Вступ. Анестетики мають доволі широке застосування в медичній практиці, при цьому не лише в анестезіології, а й при лікуванні хронічного та онкологічного болю, ЛОР-практиці, офтальмології. Залежно від обсягу впливу на організм розрізняють місцеві (локальне знеболення) та загальні. Останні залежно від способу застосування поділяють на інгаляційні (газоподібні речовини і леткі рідини, котрі вводять в організм через дихальні шляхи) та неінгаляційні (вводять у кров'яне русло). Місцеві анестетики можуть існувати в іонізований (протонний) формі, котрі проникають крізь мембрану у вигляді ліпофільних основ та у формі неіонізованих сполук, котрі розчиняються у мембрані [1]. При проведенні хірургічних втручань найчастіше застосовують лідокаїн, який блокує потенціалзалежні натрієві канали, чим перешкоджає проведенню імпуль-

сів по нервових волокнах [2]. Інший поширений анестетик – новокаїн має здатність блокувати натрієві канали, гальмувати K^+ -струм, конкурувати з кальцієм, знижувати синтез ацетилхоліну. Попри широке застосування анестетиків, механізм дії частини з них досі залишається нез'ясованим, вони мають побічні ефекти, які можуть бути зумовлені широким спектром неспецифічної фармакологічної активності – впливом на інші (крім натрієвих каналів) транспортувальні системи у клітинах. Такі неспецифічні ефекти особливо цікаві для нас з точки зору пошуку блокатора описаних у 2005 р. [3] високопровідних катіонних каналів (LCC-каналів) ядерної мембрани. Метою роботи було перевірити фармакологічну чутливість LCC-каналів до дії анестетиків (мідокалму, дипрофолу) та очищених фракцій зміїних отрут (нейротоксину II, α -Кобратоксину).

Матеріали і методи. Дослідження виконано на щурах ліній *Wistar* та *Fisher* віком від 3 до 4 тижнів. Усі експериментальні процедури виконували відповідно до положень Комітету з біоетики Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України та положень Європейської Конвенції із захисту тварин (Страсбург, 1986). Тварин швидко декапітували та виділяли серце або мозок в розчин на основі NaCl, який містив (ммоль/л): NaCl – 150; HEPES – 10; EDTA – 1 (pH 7,4).

Виділення ядер кардіоміоцитів. Серце відмивали від крові та переносили у розчин такого складу: цукроза – 300; KCl – 60; HEPES – 10 (pH 7,2), у якому його подрібнювали та гомогенізували. До розчину додавали суміш інгібіторів протеаз (cOmplete Protease Inhibitor Cocktail tablets, "Roche", Німеччина) у концентрації зазначеній виробником. Гомогенізацію тканини проводили при 1–4°C із застосуванням скляного гомогенізатора об'ємом 2 мл (Dounce "Bellco Glass", США). Отриманий гомогенат центрифугували протягом 10 хв при 1000 g (4 °C) у центрифугі miniSpin "EppendorfAG" (Гамбург, Німеччина). Супернатант зливали, а осад ресуспендували піпетуванням у розчині, що містив (ммоль/л): KCl – 150; HEPES – 8; HEPES-калієва сіль – 12; EGTA – 1 (pH 7,2) – далі робочий розчин KCl. Детальніше методику виділення описано нами раніше [4].

Виділення ядер нейронів Пуркінє. Зрізи мозочка товщиною приблизно 400 мкм виготовляли вручну та поміщали у розчин (ммоль/л): калію глюконат – 150; EDTA – 1; HEPES – 10; HEPES-калієва сіль – 10 (pH 7,2), також додавали 1,6 мг/мл суміші інгібіторів протеаз (cOmplete Protease Inhibitor Cocktail tablets, "Roche", Німеччина). Тканину гомогенізували шляхом пропускання через металеву голку діаметром 0,7 мм, після чого гомогенат центрифугували на холоді (4°C) при 2000 g протягом 5 хв (miniSpin "EppendorfAG", Гамбург, Німеччина). Детальніше методику отримання ізольованих ядер нейронів Пуркінє описано Марченком С. М. і співавт. [3].

Отриману суспензію ядер нейронів або кардіоміоцитів поміщали в робочу камеру (з прозорим дном) об'ємом 200 мкл. Через 4–7 хв препарат відмивали від залишків інших органел робочим розчином KCl, яким заповнювали також і patch-піпетки. Візуалізацію ядер проводили із використанням інвертованого мікроскопа ("LEICADMIRB", Німеччина). Діючі речовини вносили безпосередньо у камеру із врахуванням кінцевої концентрації або ж повністю замінювали розчин проточною аплікацією.

Електрофізіологічні дослідження. Струми через поодинокі канали реєстрували, використовуючи метод *patch-clamp* у конфігурації *nucleus-attached* або *excised patch* в режимі фіксації потенціалу. Значення показників отримували за допомогою підсилювача Visual-Patch 500 ("Bio-Logic", Франція). Patch-піпетки з опором від 9 до 14 МОм виготовляли з боросилікатного скла ("Sutter Instruments", США). Індиферентний електрод Ag-AgCl був сполучений із робочою камерою через 0,3 % агаровий місток, заповнений робочим розчином. Отримані результати були проаналізовані за допомогою програми Clampfit 10.7 ("Axon Instruments", США). Для графіч-

ного зображення результатів використовували OriginPro 9.0 ("OriginLab Corporation", США).

Результати та їх обговорення. Однією з актуальних досліджуваних нами проблем є вивчення фармакологічної чутливості описаних у 2005 р. вископровідних катіонних каналів (LCC-каналів) ядерної мембрани. Нашими попередніми дослідженнями показано, що деякі речовини з ряду н-холіномодуляторів здатні суттєво впливати на функціонування цих каналів [5]. Частина з цих речовин (атракуріум, дитилін) одночасно є анестетиками, стосованими у медичній практиці, а як відомо, їм притаманна відносна специфічність, що обумовило вибір блокаторів для подальшого дослідження саме серед препаратів цієї групи. Тим більше, кількість публікацій, котрі підтверджують низьку специфічність навіть відомих і поширених блокаторів (котрі раніше вважали високоспецифічними) щороку зростає. Наприклад, 2-аміноетоксидифенілборат (2-АФБ), який є блокатором IP₃-рецепторів [6, 7], частково інгібує також Ca²⁺-помпу ендоплазматичного ретикулу та депокерований вхід Ca²⁺ [8, 9], блокує TRPC6, TRPM8 і активує TRPV1, TRPV2, TRPV3 – канали [10]. α -конотоксин PeIA інгібує α 9 α 10 і α 3 β 2 субтипи н-холінорецепторів, а також N-тип кальцієвих каналів [11].

Спочатку ми дослідили вплив мідокалму (міорелаксанта з анестетико-подібною дією) на LCC-канали ядерної мембрани кардіоміоцитів і нейронів. Діюча речовина мідокалму – толперизон є специфічним інгібітором моносинаптичних і лише частково пригнічує полісинаптичні рефлекс, також має здатність блокувати натрієві канали та кальцієві канали N-типу [12]. У концентраціях від 0,1 до 2 ммоль/л мідокалм не проявляв статистично достовірного впливу на середню амплітуду струму крізь LCC-канали (n=5; рис. 1). Однак, під впливом 2 ммоль/л цієї речовини в 2-4 рази зменшувалася ймовірність перебування каналу у відкритому стані (P_o), а також спостерігали так зване "миготіння" каналу (показано на рис. 1 стрілкою) – кількість швидких послідовних закривань та відкривань каналу за одиницю часу була у 6 разів більшою, ніж у контролі. Оскільки ефект перевірених нами речовин на LCC-канали експресовані в мембранах нейронів Пуркінє та кардіоміоцитах був подібним, то приклад реєстрації струму (тут і далі) представлено на одному з об'єктів, а залежність доза-ефект показано на усереднених показниках для каналів ядер обох типів клітин.

Після цього ми досліджували вплив дипрофолу (діюча речовина – пропофол), механізм дії якого повністю не вивчений, але відомо, що його ефекти зумовлені порушенням функціонування іонних каналів (у т. ч. натрієвих) унаслідок неспецифічного впливу на мембрани нейронів центральної нервової системи. Дія пропофолу передбачає позитивну модуляцію інгібіторної функції нейромедіатора гама-аміномасляної кислоти через ГАМК-рецептори [13]. Під впливом дипрофолу (0,2–2 ммоль/л) середня амплітуда K⁺-струму крізь LCC-канали не змінювалася, але у два рази зменшувалася показник P_o (n=4; рис. 2).

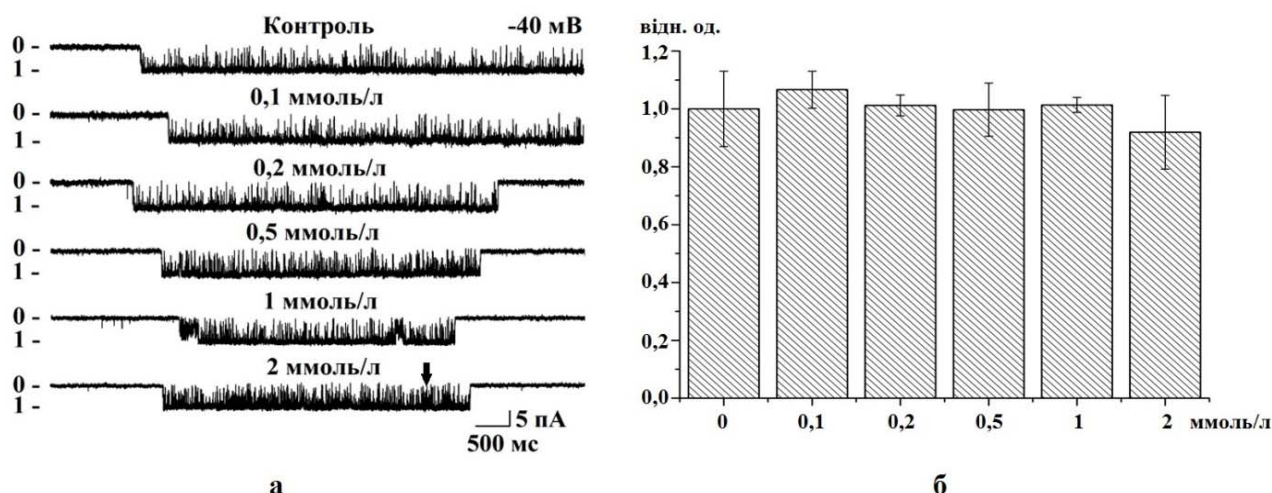


Рис. 1. Активність LCC-каналів ядерної мембрани за дії мідокалму в концентрації від 0,1 до 2 ммоль/л. Оригінальні реєстрації струму через LCC-канали ядерної мембрани кардіоміоцитів при потенціалі -40 мВ (а): 0 – всі канали закриті, 1 – відкритий один канал. Амплітуда K⁺-струму через канал, нормалізовані показники (б)

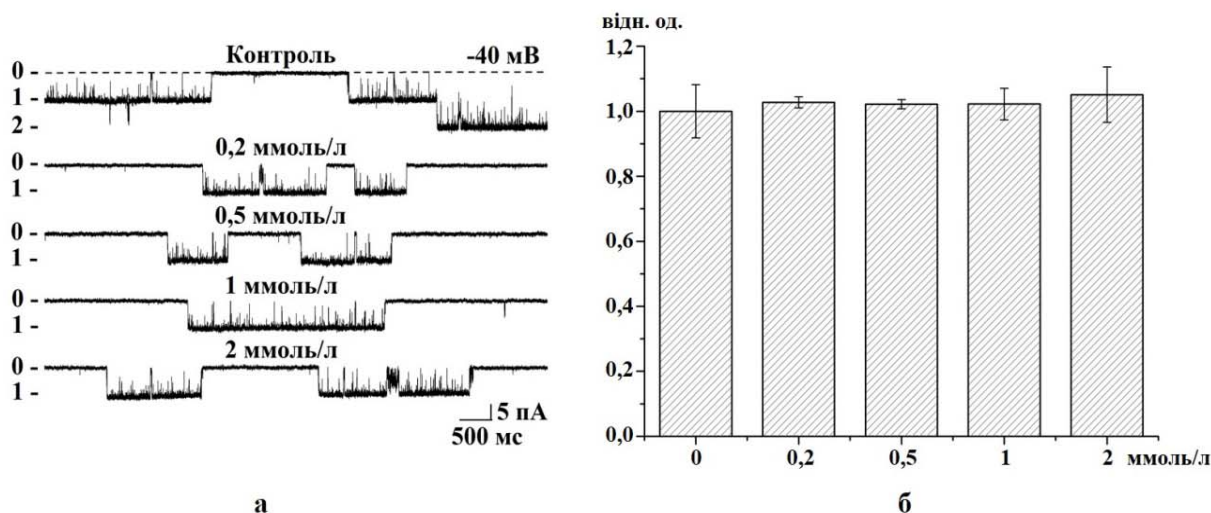


Рис. 2. Приклад реєстрації струму через LCC-канали ядерної мембрани нейронів Пуркінє при потенціалі -40 мВ (а) та усереднені K⁺-струми крізь LCC-канали ядерних мембран нейронів і кардіоміоцитів (б) під впливом дипрофолу [0,1 – 2 ммоль/л]

Деякі ін'єкційні форми препаратів з анальгезивною і спазмолітичною дією і на сьогодні виготовляють на основі змішаних отрут. Зважаючи на недостатню кількість даних про фармакологічну чутливість LCC-каналів, цікавим аспектом є дослідження не лише впливу н-холіномодуляторів, але й інших речовин, зокрема отрут, які в історичному плані часто були ідентифіковані як блокатори того чи іншого типу каналів. Вплив кількох фракцій таких отрут на LCC-канали нейронів Пуркінє мозочка раніше вже був досліджений. Зокрема, встановлено, що фракції отрути кобри моноклевої, гадюки степової та гадюки шумливої значно (до 85 %) зменшували ймовірність перебування LCC-каналів у відкритому стані, а отрута крайта стрічкового (на четвертину) і скорпі-

она лісового (вдвічі) зменшували значення K⁺-струму через ці канали [14]. Однак, досліджені речовини були у формі неочищених фракцій, що унеможлиблює однозначну оцінку частки впливу тої чи іншої їх складової. Крім цього, за таких умов складно оцінити концентрації діючих речовин у фракційній суміші.

Продовжуючи дослідження впливу природних отрут на функціонування LCC-каналів ми поділяли на них очищеним препаратом нейротоксину II (NTII). Цей нейротоксин, який здатний інгібувати н-холінорецептори, виділяють з отрути кобри *Naja oxiana*. У концентрації 25 мкмоль/л він достовірно зменшував амплітуду струму через LCC-канали на 13 % порівняно з контролем (n=5; рис. 3).

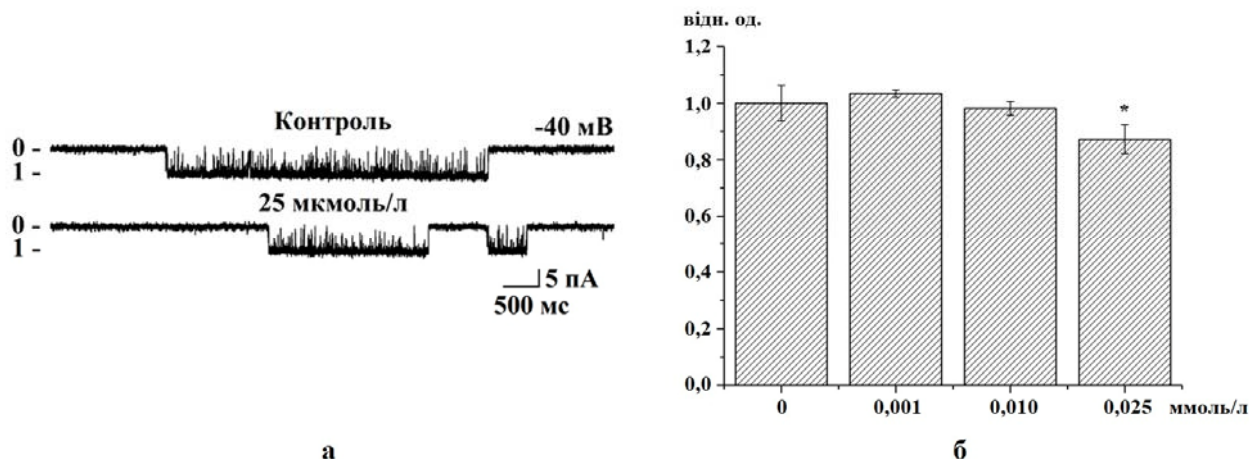


Рис. 3. Функціональна активність LCC-каналів ядерної мембрани за дії NTII [0,001–0,025 ммоль/л]. Оригінальні реєстрації струму через LCC-канали ядерної мембрани кардіоміоцитів при потенціалі -40 мВ (а): 0 – всі канали закриті, 1 – один канал відкритий. Калієвий струм через LCC-канал, нормалізовані показники (б)

У наступній серії експериментів ми досліджували біофізичні характеристики функціонування LCC-каналів ядерної мембрани при аплікації α -Кобратоксину (α -CTX). Останній є основним компонентом фракції отрути кобри *Naja kaouthia cobra*, це довголанцюговий α -нейротоксин, що специфічно взаємодіє з $\alpha 7$ і $\alpha 9(\alpha 10)$ субодинами н-холінорецепторів ссавців [15]. α -CTX конкурент-

но зв'язується з н-холінорецепторами нейронального і м'язового типів, тим самим гальмуючи іонний потік через постсинаптичну мембрану, що призводить до паралічу. За дії α -CTX у концентрації 1-2 ммоль/л спостерігали зменшення P_o вдвічі та незначний ефект "миготіння" каналу ($n=4$; рис. 4).

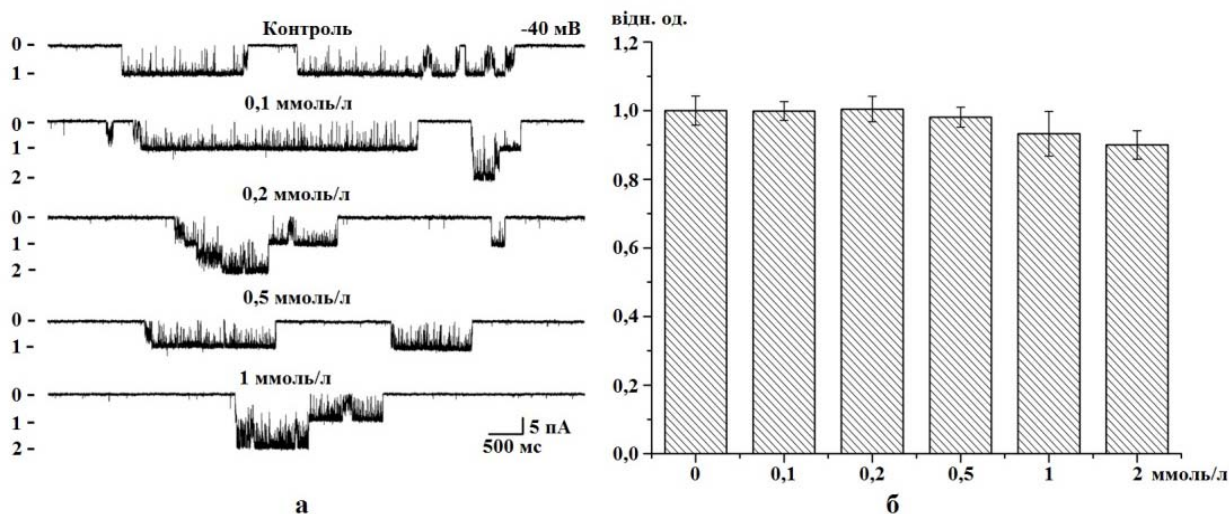


Рис. 4. Функціонування LCC-каналів ядерної мембрани під впливом α -Кобратоксину (α -CTX) у концентрації від 0,1 до 2 ммоль/л. Приклад реєстрації струму через LCC-канали ядерної мембрани кардіоміоцитів при потенціалі -40 мВ (а): 0 – всі канали закриті, 1, 2 – відповідна кількість відкритих каналів. Калієвий струм через LCC-канали, нормалізовані показники (б)

Такий ефект "миготіння" під впливом деяких досліджених нами речовин (тубокурарин, дитилін, атракуріум, мідокалм, α -CTX) очевидно, пов'язаний з механічним блокуванням пори каналу у його відкритому стані.

Але ми не можемо також виключити, що зменшення ймовірності перебування каналів у відкритому стані та безпосередня зміна амплітуди струму через них під впливом лігандів нікотинних холінорецепторів зумовлена опосередкованим впливом на певну форму нікотинних рецепторів, присутню на ядерній мембрані, подібно до нещодавно відкритих нікотинних рецепторів на зовнішній мембрані мітохондрій [16], однак це припущення потребує окремого дослідження.

Отже, серед досліджених нами речовин мідокалм і дипрофол, а також α -Кобратоксин в декілька разів змен-

шували ймовірність перебування LCC-каналів у відкритому стані. Після аплікації високих доз мідокалму та α -Кобратоксину спостерігали ефект "миготіння" каналів, що свідчить про часткове механічне блокування пори каналу у його відкритому стані. При цьому середня амплітуда струму за дії усіх перелічених речовин у досліджуваних концентраціях залишалася незмінною. Отримані результати стануть важливими індикаторами при подальшому пошуку більш ефективних і специфічних блокаторів LCC-каналів.

Робота виконана за підтримки гранту "Молекулярно-генетичні і біохімічні механізми регуляції клітинних та системних взаємодій за фізіологічних та патологічних станів – 2017–2021" НАН України 0116U004470.

Автори висловлюють щире подяку академіку НАН України Марині Володимирівні Скок за консультаційну допомогу і надання деяких реагентів; пану Шота Хаджишвілі за часткове фінансування проекту; Наталії Павловій, Марії Хомин, Іраді Юришинець, Лінді Зоркот за асистування під час проведення експериментів.

Список використаних джерел:

1. Місцеві анестетики: механізм дії, токсичні реакції та їх профілактика / Ю. Л. Кучин, М. М. Пилипенко, Ю. І. Налапко, Р. Крегг // Укр. журн. екстремальної медицини імені Г.О. Можаяєва, 2011. – № 2 (12). – С. 33–47.
2. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of lignocaine: a review / L. Weinberg, B. Peake, C. Tan, M. Nikfarjam // World J Anesthesiol., 2015. – Vol. 2(4). – С. 17–29.
3. Spontaneously active and InsP₃-activated ion channels in cell nuclei from rat cerebellar Purkinje and granule neurones / S. M. Marchenko, V. V. Yarotsky, T. N. Kovalenko et al. // J. of Physiology, 2005. – Vol. 3, (565). – P. 897–910.
4. Котик О. А. Оптимізація методу ізолювання ядер для електрофізіологічних досліджень іонних каналів ядерної мембрани кардіоміоцитів щура / О. А. Котик, А. Б. Котлярова, С. М. Марченко // Фізіол. журн., 2018. – № 2 (64). – С. 26–33.
5. Вплив блокаторів на високопровідні катіонні канали в ядерній мембрані / О. А. Котик, А. Б. Котлярова, Н. І. Павлова, С. М. Марченко // Нейрофізіологія. Neurophysiology, 2017. – № 2 (49). – С. 159–161.
6. Котлярова А. Б. IP₃-чутливі Ca²⁺-канали ендоплазматичного ретикула секреторних клітин зовнішньоробітальних слізозов'язок щура / А. Б. Котлярова, В. В. Манько // Укр. біохім. журн., 2013. – № 5 (85). – С. 27–36.
7. 2-Aminoethoxydiphenyl borate affects the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, the intracellular Ca²⁺ pump and the non-specific Ca²⁺ leak from the non-mitochondrial Ca²⁺ stores in permeabilized A7r5 cells / L. Missiaen, G. Callewaert, H. de Smedt, J. B. Parys // Cell Calcium., 2001. – Vol. 29(2). – P. 111–116.
8. Котлярова А. Б. Вплив 2-АФБ на Ca²⁺-помпу ендоплазматичного ретикула секреторних клітин слізозов'язок щури / А. Б. Котлярова, В. В. Манько // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія, 2013. – № 3. – С. 38–43.
9. Bootman M. 2-Aminoethoxydiphenyl borate (2-APB) is a reliable blocker of store-operated Ca²⁺ entry but an inconsistent inhibitor of InsP₃-induced Ca²⁺ release / M. Bootman, T. Collins, L. Mackenzie et al // FASEB J., 2002. – Vol. 16(10). – P. 1145–1150.
10. 2-Aminoethoxydiphenyl borate is a common activator of TRPV1, TRPV2, and TRPV3 / Hong-Zhen Hu, Qihai Gu, Chunbo Wang et al. // J. Biological Chem., 2004. – Vol. 279 (34). – P. 35741–35748.
11. Daly N.L. Structure and activity of α -Conotoxin PeIA at nicotinic acetylcholine receptor subtypes and GABA(B) receptor-coupled N-type calcium channels / N. L. Daly, B. Callaghan, R. J. Clark // J. Biological Chem., 2011. – Vol. 286 (12). – P. 10233–10237.
12. Tekes K. Basic aspects of the pharmacodynamics of tolperisone, a widely applicable centrally acting muscle relaxant / K. Tekes // The Open Medicinal Chem. J., 2014. – Vol. 8. – P. 17–22.
13. Propofol anesthesia. mechanism of action, structure-activity relationships, and drug delivery / G. M. Trapani, C. Altomare, G. Liso et al // Current Medicinal Chem., 2000. – Vol. 7 (2). – P. 249–271.
14. Вплив природних отрут на характеристики катіонних каналів великої провідності внутрішньої ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка щурів / О. В. Луцько, О. А. Федоренко, О. В. Ісаєва, С. М. Марченко // Фізіол. журн., 2018. – № 6 (64). – С. 23–31.
15. Detection of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors with the aid of antibodies and toxins / V. Tsetlin, I. Shelukhina, E. Kryukova et al. // Life Sciences, 2007. – Vol. 80 (24–25). – P. 2202–2205.
16. Nicotinic acetylcholine receptors in mitochondria: subunit composition, function and signaling / M. Skok, G. Gergalova, O. Lykhmus // Neurotransmitter, 2016. – Vol. 3 (e1290). – P. 1–12.

Е. Котик, мл. науч. сотр., А. Котлярова, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., Е. Исаева, д-р биол. наук, вед. науч. сотр., С. Марченко, д-р биол. наук
Институт физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины, Киев, Украина

References (Scopus):

1. Kuchin YuL, Pylypenko MM, Nalapko Yul, Cregg R. [Local anesthetics: mechanism of action, toxic reactions and its prevention]. Ukrainian J of extreme medicine behalf H.O. Mozhayeva. 2011;2(12):33–47. (Ukrainian).
2. Weinberg L, Peake B, Tan C, Nikfarjam M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of lignocaine: A review. World J Anesthesiol. 2015;2(4):17–29.
3. Marchenko SM, Yarotsky VV, Kovalenko TN et al. Spontaneously active and InsP₃-activated ion channels in cell nuclei from rat cerebellar Purkinje and granule neurones. J Physiology. 2005;3(565):897–910.
4. Kotyk OA, Kotliarova AB, Marchenko SM. [Optimization of the method of nuclei isolation for electrophysiological studies of ion channels in the nuclear membrane of the rat cardiomyocytes]. Fiziol Zh. 2018;64(2):26–33. (Ukrainian).
5. Kotyk OA, Kotliarova AB, Pavlova NI, Marchenko SM. [Effects of blockers of large-conductance cation channels of the nuclear membrane]. Neurophysiology. 2017 Apr;49(2):159–61. (Ukrainian).
6. Kotliarova AB, Manko VV. [IP₃-sensitive Ca²⁺-channels of endoplasmic reticulum in secretory cells of the rat exorbital lacrimal gland]. 2013;85(5):27–36. (Ukrainian).
7. Missiaen L, Callewaert G, De Smedt H, Parys J. 2-Aminoethoxydiphenyl borate affects the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, the intracellular Ca²⁺ pump and the non-specific Ca²⁺ leak from the non-mitochondrial Ca²⁺ stores in permeabilized A7r5 cells. Cell Calcium. 2001 Feb;29(2):111–6.
8. Kotliarova A, Manko V. [Effect of 2-APB on SERCA of lacrimal gland secretory cells]. Experimental and clinical physiology and biochemistry. 2013;3:38–43. (Ukrainian).
9. Bootman M, Collins T, Mackenzie L et al. 2-Aminoethoxydiphenyl borate (2-APB) is a reliable blocker of store-operated Ca²⁺ entry but an inconsistent inhibitor of InsP₃-induced Ca²⁺ release. FASEB J. 2002;16(10):1145–50.
10. Hong-Zhen Hu, Qihai Gu, Chunbo Wang et al. 2-Aminoethoxydiphenyl borate is a common activator of TRPV1, TRPV2, and TRPV3. J Biol Chem. 2004;279(34):35741–8.
11. Daly NL, Callaghan B, Clark RJ. Structure and activity of α -Conotoxin PeIA at nicotinic acetylcholine receptor subtypes and GABA(B) receptor-coupled N-type calcium channels. J Biol Chem. 2011;286(12):10233–7.
12. Tekes K. Basic aspects of the pharmacodynamics of tolperisone, a widely applicable centrally acting muscle relaxant. The Open Medicinal Chemistry J. 2014;8:17–22.
13. Trapani G, Altomare C, Liso G, Sanna E, Biggio G. Propofol in anesthesia, mechanism of action, structure-activity relationships, and drug delivery. Curr Med Chem. 2000;7(2):249–71.
14. Lunko OV, Fedorenko OA, Isaeva EV, Marchenko SM. [Effects of venoms on large conductance cationic channels on the inner nuclear membrane of rat cerebellum Purkinje neurons]. Fiziol Zn. 2018;6(64):23–31. (Ukrainian).
15. Tsetlin V, Shelukhina I, Kryukova E et al. Detection of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors with the aid of antibodies and toxins. Life Sciences. 2007;80(24–25):2202–5.
16. Skok M, Gergalova G, Lykhmus O et al. Nicotinic acetylcholine receptors in mitochondria: subunit composition, function and signalling. Neurotransmitter. 2016;3(e1290):1–12.

Надійшла до редколегії 03.10.19

Отримано виправлений варіант 04.11.19

Підписано до друку 04.11.19

Received in the editorial 03.10.19

Received revised version on 04.11.19

Signed in the press on 04.11.19

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ АНЕСТЕТИКОВ И ПРИРОДНЫХ ЯДОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ЛСС-КАНАЛОВ ЯДЕРНОЙ МЕМБРАНЫ КАРДИОМИОЦИТОВ И НЕЙРОНОВ ПУРКИНЬЕ МОЗЖЕЧКА

Изучение фармакологической чувствительности катионных каналов ядерной мембраны к влиянию анестетиков и природных ядов является актуальным, поскольку ранее показано, что некоторые модуляторы н-холинорецепторов (атракуриум и дитилин), которые изменяют функциональную активность ЛСС-каналов используются в медицине. Кроме того, некоторые инъекционные формы токсинов, которые выделяют из яда змей, используются в качестве препаратов с анальгезирующим действием. Поэтому целью исследования было проверить фармакологическую чувствительность ЛСС-каналов к действию миорелаксантов и анестетиков (мидокалма, дипрофол) и природных ядов (нейротоксина II, α -Кобратоксина). Влияние перечисленных веществ оценивали на основе изменений биофизических параметров функционирования ЛСС-каналов ядерной мембраны кардиомиоцитов и нейронов Пуркинью мозжечка. Токи через каналы регистрировали методом пэтч-клэмп в конфигурации nucleus-attached или excised patch в режиме фиксации потенциала. Нами установлено, что мидокалм (2 ммоль/л), дипрофол (2 ммоль/л) и α -Кобратоксин (1 ммоль/л) в несколько раз уменьшали вероятность нахождения каналов в открытом состоянии. За действия высоких концентраций (1–2 ммоль/л) мидокалма и α -Кобратоксина наблюдали эффект "мерцания" каналов, что свидетельствует о блокировании поры канала в открытом состоянии. Также средняя амплитуда K⁺-тока через канал под влиянием NT II в концентрации 25 мкмоль/л достоверно уменьшалась на 13% относительно контроля. Полученные результаты станут основой для поиска более эффективных ингибиторов ЛСС-каналов, которые будут перспективными для использования в качестве инструмента при исследовании молекулярной динамики, механизмов регуляции, физиологической роли и структуры этих каналов.

Ключевые слова: ЛСС-каналы, ядерная мембрана, анестетики, природные яды.

O. Kotyk, M. Sci, A. Kotliarova, Ph. D., O. Isaeva, Dr. Sci., S. Marchenko, Dr. Sci.
Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine

THE EFFECT OF SOME ANESTHETICS AND NATURAL VENOMS ON THE LCC-CHANNELS FUNCTIONING OF THE NUCLEAR MEMBRANE OF CARDIOMYOCYTES AND CEREBELLUM PURKINJE NEURONS

The investigation of pharmacological sensitivity of the cationic channels in nuclear membrane to the influence of anesthetics and natural venoms is relevant since it was shown that some modulators of N-cholinoreceptors (dithylinum, atracurium) affecting the large conductance cation channels (LCC-channels) functional activity are used in medicine during surgery. In addition, some injectable forms of toxins from the snake venom are used as drugs with an analgesic effect. Therefore, the aim of the study was to investigate the pharmacological sensitivity of the LCC-channels to the muscle relaxants, anaesthetics (mydocalm, diprofol) and natural venoms (neurotoxin II, α -Cobratoxin). The influence of these substances was evaluated based on changes in biophysical parameters of functioning of the LCC-channels of nuclear membrane of the cardiomyocytes and cerebellar Purkinje neurons. Ion currents through these channels were registered in the nucleus-attached or excised patch configuration and the voltage-clamp mode of the patch-clamp technique. We found that mydocalm (2 mM), diprofol (2 mM) and α -Cobratoxin (1 mM) reduced several times the probability of the channels being in the open state. Under the influence of mydocalm and α -Cobratoxin in high concentrations (1-2 mM) the effect of channels flickering was observed which indicates the channel pore blocking in its open state. At the same time, the average amplitude of the K⁺ current through the LCC-channels decreased by 13 % under the influence of NT II (25 μ M). The results will be the basis for identification of new, more effective inhibitors of the LCC-channels that will be promising for the physiological relevance and structure of the channels investigation.

Keywords: LCC channels, nuclear membrane, anesthetics, natural venoms.

УДК 581.9 (477.72)

Л. Мацап'як, провід. наук. співроб.
Національний природний парк "Верховинський", Верхній Ясенів, Україна

АНАЛІЗ ФЛОРИ СУДИННИХ РОСЛИН НАЦІОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКУ "ВЕРХОВИНСЬКИЙ"

Проаналізовано систематичну структуру флори Національного природного парку "Верховинський" з подальшим здійсненням критико-таксономічного, біоморфологічного, географічного аналізів, проаналізована соціологічна цінність флори. Встановлено, що у складі флори наявні 675 видів вищих судинних рослин, які належать до 5 відділів. Домінують Magnoliophyta – 93,6 %, співвідношення Magnoliopsida до Liliopsida становить 1:3,2, що характерно для флори Середньої Європи. Це є свідченням приблизно однакового віку флор НППВ, Українських Карпат та Середньої Європи. Отже, проведено систематичний аналіз, який підтвердив, що флора парку є типовою середньоевропейською з вираженими бореальними рисами. За аналізом географічної структури встановлена приналежність флори НПП "Верховинський" до середньоевропейського типу з переважанням елементів монтанних, океанічних, темперантних та субтемперантних флор. Разом з тим в її складі участь видів, характерних для європейсько-азійських бореальних субконтинентальних флор, значна. Проаналізовано екологічну структуру флори, що вказує на переважання у її складі мезофітів, мезотрофіє та геліофітів, що властиво для флор Середньої Європи. Встановлено, що в межах території парку ростуть 71,4 % видів флори Українських Карпат, загрожуваних в глобальному масштабі, 36,4 % – загрожуваних в європейському масштабі, 47,8 % ендеміків і 54,2 % субендеміків Українських Карпат. Найвищий рівень соціологічної значимості характерний для масивів Гнєтєса-Фатія Банулуї (63 раритетних види), Прелуки-Хутанка – (53 види).

Ключові слова: флора, судинні рослини, ендеміки, раритетні види, НПП "Верховинський", Чивчино – Гринявські гори.

Вступ. Збереження біорізноманіття є глобальною екологічною проблемою і розв'язання її можливе тільки на основі вичерпних знань про різноманіття рослинного і тваринного світу конкретних регіонів. У зв'язку з цим важливе значення мають детальні флористичні дослідження, без яких неможливе регіональне природокористування і створення науково обґрунтованої системи охорони фітобіоти. Окрім того, встановлення повного видового складу і детальний аналіз флори сприяють вирішенню багатьох питань систематики і фітогеографії, є підставою для наступного фітомоніторингу.

Розв'язання вищезазначених питань актуально для регіонів з високим рівнем видового багатства та оригінальністю флори. До таких в Українських Карпатах належать Чивчино-Гринявські гори, де створений Національний природний парк "Верховинський" Указом Президента України від 22 січня 2010 р. (№ 58/2010), загальною площею – 12022,9 га. В адміністративних межах Верховинського району Івано-Франківської області (верхів'я Білого і Чорного Черемошів) – це найбільш віддалена і важкодоступна частина Українських Карпат.

Чивчинські гори, в межах яких розташована більша частина НПП "Верховинський", є північно-західною частиною Мармароського кристалічного масиву. Це єдиний в Українських Карпатах район, де на поверхню виходять найдавніші метаморфічні утворення, складені доверхньопалеозойськими вулканогенними, туфогенними та осадовчо-метаморфічними породами – гнейсами, амфіболітами, вапняками. Своєрідна геоло-

гічна будова стали причинами формування специфічної флори цього регіону.

За фізико-географічним районуванням територія НПП "Верховинський" знаходиться в межах Рахівсько-Чивчинської, та в межах Полонинсько-Чорногірської області Українських Карпат [15].

За геоботанічним районуванням територія належить до Свидовецько-Покутсько-Мармароського округу Східно-Карпатської гірської підпровінції Центрально-європейської провінції Європейської широколистяно-лісової області [5].

Чивчинські гори, незважаючи на віддаленість здавна привертати увагу ботаніків. Ботанічні дослідження на території, яку зараз займає НПП "Верховинський" почалися ще у XIX ст. Вони мали суто флористичний характер, а результати наведено у працях О. Волошака (Woloszszak, 1888) та Х. Запаловича (Zapalowicz, 1889; 1906; 1908; 1911). У середині 30-х років минулого століття на території Чивчинських гір працювала комплексна ботанічна експедиція польських вчених під керівництвом Б. Павловського. За її результатами опубліковано аналіз флори Чивчинських гір (Pawlowski, 1948) та їхня геоботанічна характеристика (Pawlowski, Walas, 1949). Відомості про флору і рослинність Чивчинських гір містяться у працях низки українських ботаніків: В.І. Чопика (1969; 1976), Є.М. Бродіс (1969), В.П. Горбика (1968а; 1968б), В.П. Горбика і Т.Л. Андрієнко (1969), К.А. Малиновського (1980), С.О. Волгіна та Н.М. Сичак (1989а; 1989б; 1992), Л.І. Мілкіної (1994), І.І. Чорнея