

Д. Франкевич, асп., Д. Гребинук, канд. биол. наук, О. Матишевская, д-р биол. наук  
КНУ имени Тараса Шевченко, Киев

### ДОКСОРУБИЦИН – МОДУЛЯТОР ПРОДУКЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И УРОВНЯ ЦИТОЗОЛЬНОГО $\text{Ca}^{2+}$ В НОРМАЛЬНЫХ И ЛЕЙКЕМИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ

С использованием специфических флуоресцентных зондов было оценено продукцию активных форм кислорода и концентрацию цитозольного кальция в клетках. Обнаружено внеядерные эффекты ДНК-повреждающего противоопухолевого препарата доксорубина – длительное усиление продукции АФК и повышение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ , как проявление цитотоксического действия препарата не только в лейкемических (линия L1210 лимфоидная лейкемия мышей), но и в нормальных (изолированные тимоциты крысы) лимфоидных клетках.

Ключевые слова: активные формы кислорода, цитозольный  $\text{Ca}^{2+}$ , доксорубин, клетки L1210, тимоциты.

D. Franskevich, PhD stud., D. Grebinuk, PhD., O. Matushevskaya, DSc.  
Kyiv National Shevchenko University, Kyiv

### DOXORUBICIN – MODULATOR OF REACTIVE OXYGEN SPECIES PRODUCTION AND CYTOSOLIC $\text{Ca}^{2+}$ LEVEL IN NORMAL AND LEUKEMIC CELLS

Using the specific fluorescent probes the reactive oxygen species production and the concentration of free cytosolic calcium in cells were estimated. Extra-nuclear effects of a DNA-damaging anticancer drug doxorubicin are demonstrated – long-term enhancement of ROS production and increasing of  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations, as a manifestation of drug cytotoxic effect not only in leukemic (L1210 line of mice lymphoid leukemia), but also in normal (isolated rat thymocytes) lymphoid cells.

Key words: reactive oxygen species, cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$ , doxorubicin, L1210 cells, thymocytes.

УДК: 546.655.4-31+612.018.2+612.881

О. Єфіменко, асп., Ю. Савченко, канд. биол. наук, Н. Нуріщенко, д-р биол. наук  
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ,  
Н. Жолобак, канд. биол. наук, М. Співак, чл.-кор.  
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ

### СКОРОТЛИВА АКТИВНІСТЬ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ ШЛУНКУ ТА ТОВСТОЇ КИШКИ У ЩУРІВ

#### ЗА УМОВ 10-ДЕННОГО ВВЕДЕННЯ НАНОКРИСТАЛІЧНОГО ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ

Встановлено, що нанокристалічний діоксид церію (НДЦ) в шлунку молодих щурів збільшував співвідношення фазного і тонічного компонентів скорочень викликаних гіперкалієвим розчином (ГКР) на 21,9% ( $p < 0,05$ ). У старих щурів у шлунку після дії НДЦ зростала амплітуда скорочень на 32,1% ( $p < 0,05$ ), співвідношення фазного і тонічного компонентів на 122% ( $p < 0,01$ ), швидкість розвитку скоротливої відповіді ( $V_{nc}$ ) збільшувалась на 138,8% ( $p < 0,01$ ), а швидкість фази розслаблення ( $V_{nr}$ ) на 128,1% ( $p < 0,01$ ). У шлунку старих щурів зростала  $V_{nr}$  Ах-скорочень на 90% ( $p < 0,001$ ). У товстій кишці старих щурів НДЦ збільшував амплітуду ГКР-скорочень на 350% ( $p < 0,001$ ), співвідношення фазного і тонічного складових на 59,5% ( $V_{nc}$  та  $V_{nr}$  на 166,8% та 644% ( $p < 0,001$ ), відповідно. У молодих щурів НДЦ збільшував амплітуду Ах-скорочень на 177% ( $p < 0,001$ ), а у старих щурів співвідношення фазного і тонічного складових на 79% та  $V_{nc}$  на 34,3% ( $p < 0,05$ ). Таким чином, НДЦ посилював скоротливу активність гладеньких м'язів травного тракту.

Ключові слова: нанокристалічний діоксид церію, скоротлива активність, шлунок, товста кишка.

**Вступ.** Захворювання органів травного тракту спричиняють зниження якості життя. У різних країнах від закрепів постійно або періодично страждає кожна третя-четверта доросла людина [1]. Причому спостерігається різке збільшення їх частоти після 65 років [2]. Доведено, що закрепи є головним фактором ризику колоректального раку через підвищення рівня канцерогенних метаболітів у порожнині товстої кишки в два рази і збільшення часу їх контакту зі слизовою оболонкою кишківника [3]. Так як до більшості послаблюючих препаратів з часом розвивається звикання, а ряд з них має побічну дію [4], створення нових безпечних прокінетів є актуальною проблемою сучасної біомедицини. Аналіз існуючих стимуляторів моторики показує, що найменшою побічною дією та відсутністю тахіфілаксії володіють пребіотики. Як і, як відомо, через утворення коротко ланцюгових жирних кислот активують моторику та евакуацію з товстої кишки [5]. Роботами останніх років показано, що нанокристалічний діоксид церію (НДЦ) володіє пребіотичною дією, але прокінетичні властивості його не досліджені. В зв'язку з цим метою роботи було дослідити вплив НДЦ на скоротливу активність гладеньких м'язів шлунка та товстої кишки *in vitro* у щурів різних вікових груп.

**Матеріали і методи.** Дослідження проведені на 80 білих нелінійних щурах двох вікових груп: 3 місяці (вага 130-160 г,  $n=40$ ) та 22-24 місяці (вага 390-450 г,  $n=40$ ). Кожну вікову групу було поділено наступним чином: I – контрольна група, II – група тварин, яким вво-

дили 3 мл деклорованої води, III – група щурів, яким вводили стабілізуючий розчин в об'ємі 2,9 мл/кг, та IV – група тварин, яким вводили НДЦ (1 ммоль/мл), розчиненого в стабілізуючому розчині, об'єм введенного розчину – 2,9 мл/кг. I, II та III групи тварин були контрольними. Всі речовини вводили протягом 10 днів, один раз на день, внутрішньошлунково (в/ш).

Всі роботи з тваринами проводилися відповідно до Закону України від 21.02.2006 № 3447-IV "Про захист тварин від жорстокого поводження" та у відповідності з етичними нормами і правилами роботи з лабораторними тваринами (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Academy Press, Washington DC, 1996); вимогами GLP і директивою Ради ЄС 86/609 ЕЕС від 24 листопада 1986 про наближення законів, підзаконних актів і адміністративних положень держав-членів ЄС щодо питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети. Протокол біоетичної комісії №8 від 03.04.2014.

Визначення скоротливої активності гладеньких м'язів проводили тензометричним методом на ізольованих гладеньких м'язах фундального відділу шлунка та дистального відділу товстої кишки щурів. В експерименті використовували кільцеві смужки гладеньких м'язів (середній розмір –  $2 \times 10$  мм), очищені від слизової оболонки, які розміщували у робочій камері об'ємом 5 мл з проточним розчином Кребса (швидкість протікання – 5 мл/хв). Смужкам надавали пасивний натяг (10 мН) і

залишали на 1 год. Скоротливу активність досліджували в ізометричному режимі за допомогою датчика сили. Для з'ясування особливостей впливу НДЦ на функціонування гладеньких м'язів шлунку і товстої кишки було обрано класичні стимулятори: ізотонічний гіперкалієвий розчин (ГКР) та ацетилхолін (Ах). Аналіз скоротливих відповідей гладеньком'язових препаратів здійснювали відповідно до методу, описаного в роботі [6]. Для характеристики скоротливої активності гладеньком'язових препаратів використовували наступні показники скорочень: амплітуда (мН), співвідношення фазного і тонічного компонентів (%), фази скорочення ( $V_{nc}$ ) та розслаблення ( $V_{nr}$ ) максимальної нормованої швидкості ( $xv^{-1}$ ), які розраховуються за наступною формулою:

$$V_n = \frac{(n-1)^{\frac{n-1}{n}} \cdot (n+1)^{\frac{n+1}{n}}}{4n\tau}$$

де,  $\tau$  – характеристичний час (чисельно дорівнює часу, в який спостерігається напівмаксимальне значення сили  $\frac{1}{2}f_m$ ),  $n$  – логарифмічний коефіцієнт крутизни механокінетичної кривої.

НДЦ синтезовано у відділі проблем інтерферону та імуномодуляторів ІМВ ім. Д.К.Заболотного НАН України за методикою [7]. Синтезований золь містив 0,1 Мнано-частинок діоксиду церію (в перерахунку на церій) розміром 2-7 нм, стабілізованих цитратом натрію, з дзета потенціалом мінус 20мВ. Для роботи використовували розведення вихідного золю, які проводили у стерильній деіонізованій воді.

Експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики із використанням програми OriginPro 8 [8]. Перевірку вибірок на їх приналежність до нормально розподілених генеральних сукупностей здійснювали за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Для визначення

вірогідних відмінностей між середніми величинами двох вибірок використовували непарний t-тест Ст'юдента. У всіх випадках достовірними вважали результати за умови значення ймовірності  $P$ , менше 5% ( $P < 0.05$ ). Результати представлені як середнє арифметичне  $\pm$  стандартна похибка середнього,  $n$  – кількість дослідів.

**Результати та обговорення.** В результаті проведених досліджень було встановлено, що отримані дані між I, II та III групами не мали статистично значущої різниці, тому порівняння дії НДЦ проводили з I групою. В дослідженнях на гладком'язових препаратах шлунку молодих щурів показано, що ГКР-викликані скорочення характеризувались середньою амплітудою  $18,6 \pm 11,7$  мН, а співвідношення фазного і тонічного компонентів становили  $3,2 \pm 3,5\%$ . Старіння не викликало змін даних показників. Функціональна активність ГКР-викликаних скорочень гладеньких м'язів шлунку в групі старих щурів не зазнавала значних змін порівняно з аналогічними показниками молодих тварин, але мала тенденцію до зниження. 10-денне введення НДЦ у шлунку молодих щурів збільшувало співвідношення фазного і тонічного компонентів на 21,9 % ( $p < 0,05$ ). На всі інші показники НДЦ не здійснював статистично значущого впливу.

У старих щурів у шлунку після дії НДЦ зростала амплітуда скорочень до  $34,2 \pm 5,4$  мН, що відповідало збільшенню на 32,1 % в порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ). Співвідношення фазного і тонічного компонентів у старих щурів за дії НДЦ зростало до  $10,0 \pm 3,8\%$ . Кінетичні параметри ГКР-викликаних скорочень шлунку старих щурів, які одержували НДЦ, статистично значуще зростали. Швидкість розвитку скоротливої відповіді ( $V_{nc}$ ) збільшувалась на 138,8% ( $p < 0,01$ ), а швидкість фази розслаблення ( $V_{nr}$ ) на 128,1% ( $p < 0,01$ ), (Рис. 1).

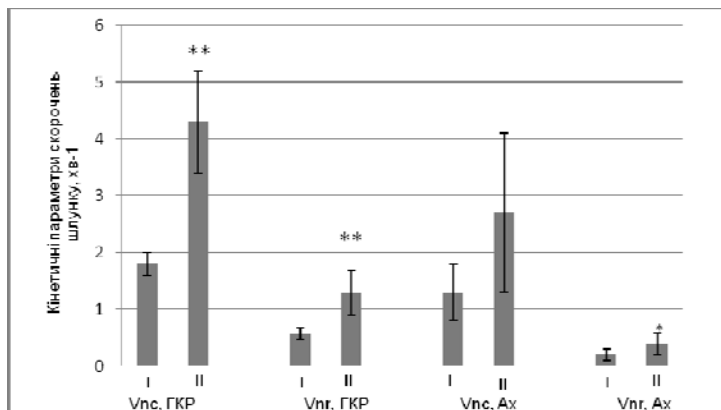


Рис. 1. Вплив нанокристалічного діоксиду церію на зміни максимальної нормованої швидкості фаз скорочення ( $V_{nc}$ ) та розслаблення ( $V_{nr}$ ) скорочень, викликаних гіперкалієвим розчином (ГКР) та ацетилхоліном (Ах) гладеньких м'язів шлунку старих щурів: I- контрольна група, II – нанокристалічний діоксид церію,  $M \pm SD$ ,  $n=10$

\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  у порівнянні з контролем.

Ах-викликані скорочення шлунку молодих щурів мали амплітуду  $9,6 \pm 3,8$  мН, а у старих –  $39,7 \pm 4,1$  мН, що було на 313% більше ( $p < 0,001$ ). Також тенденції до зростання з віком мало співвідношення фазного і тонічного компонентів з  $34,5 \pm 12,8\%$  до  $49,4 \pm 12,7\%$  ( $p > 0,05$ ). Швидкість скорочення ( $V_{nc}$ ) Ах-викликаних скорочень гладеньких м'язів шлунку в групі молодих щурів не зазнавала значних змін порівняно з аналогічними показниками старих тварин. Тоді як швидкість розслаблення зменшувалася з віком на 57 % ( $p < 0,05$ ). У молодих щурів у шлунку НДЦ не викликав змін показників Ах-скорочень. Тоді як у шлунку старих щурів зростала

швидкість розслаблення на 90% ( $p < 0,001$ ) (Рис. 1). Всі інші показники не мали статистично значущої різниці.

Результати досліджень показали, що після 10-денного введення НДЦ зростали всі показники ГКР-викликаних скорочень у обох вікових груп, а змін показників Ах-викликаних скорочень не було виявлено (окрім швидкості розслаблення). Відомо, що скоротлива відповідь ГКР-стимульованих скорочень обумовлюється іонами  $Ca^{2+}$ , що надходять до гладеньком'язових клітин через потенціалкеровані  $Ca^{2+}$ -канали L-типу [9]. Можливо в шлунку задіяний саме цей механізм дії НДЦ.

Дослідження параметрів моторної активності товстої кишки показало, що ГКР-індуковані скорочення гладь-

ських м'язів молодих тварин характеризувались середньою амплітудою  $13,5 \pm 5,4$  мН. Співвідношення фазного і тонічного складових цих скоротливих відповідей у середньому становило  $12,3 \pm 8,2$  %. У випадку гладеньких м'язів товстої кишки старих щурів амплітуда ГКР-скорочень залишалась близькою до показника молодих

тварин  $-10,8 \pm 5,1$  мН, а співвідношення фазного і тонічного складових мало тенденції до зниження на  $7,9 \pm 4,1$  %. Застосований кінетичний аналіз показав, що з віком максимальна швидкість фази скорочення зменшувалась на  $47,8\%$  ( $p < 0,01$ ), а фази розслаблення – на  $81,1\%$  ( $p < 0,01$ ), (Рис. 2).

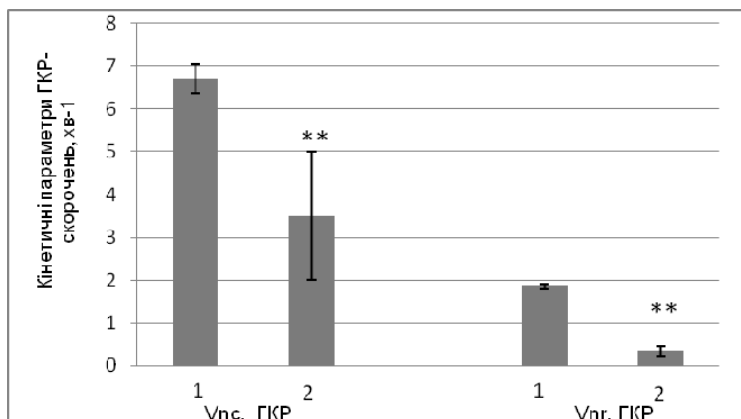


Рис. 2. Зміни максимальної нормованої швидкості фаз скорочення ( $V_{nc}$ ) та розслаблення ( $V_{nr}$ ) скорочень, викликаних гіперкалієвим розчином (ГКР) гладеньких м'язів товстої кишки у молодих (1) та старих (2) щурів:  $M \pm SD$ ,  $n=10$

\*\* –  $p < 0,01$  в порівнянні з контрольними групами щурів.

Отримані нами результати можуть бути пояснені літературними даними щодо зниження рівня внутріклітинного кальцію в гладком'язевих клітинах товстої кишки з віком [10] та зменшення вивільнення ацетилхоліну на 50% у електрично-стимульованих препаратах товстої кишки [11]. Окрім цього американськими дослідниками було проведено дослідження і встановлено, що у гладком'язових клітинах товстої кишки старих щурів зменшуються  $K^+$  та  $Ca^{2+}$  струми через відповідні канали, які впливають на початок скорочення [12].

У молодих щурів 10-денне введення НДЦ не викликало змін показників ГКР-індукованих скорочень гладеньких м'язів товстої кишки. Тоді як у старих щурів, зростала амплітуда до  $37,9 \pm 11,5$  мН, що було більше на 350 % ( $p < 0,001$ ), ніж в контролі. Співвідношення фазного і тонічного складових ГКР-активованого скорочення становило  $12,58 \pm 4,95\%$ , що було більше на 59,5 % ( $p < 0,05$ ) у випадку контрольних тварин. У групі старих щурів показники як нормованої максимальної швидкості фази скорочення, так і розслаблення зростали, відповідно, на 166,8% та 644% ( $p < 0,001$ ), (Рис.5).

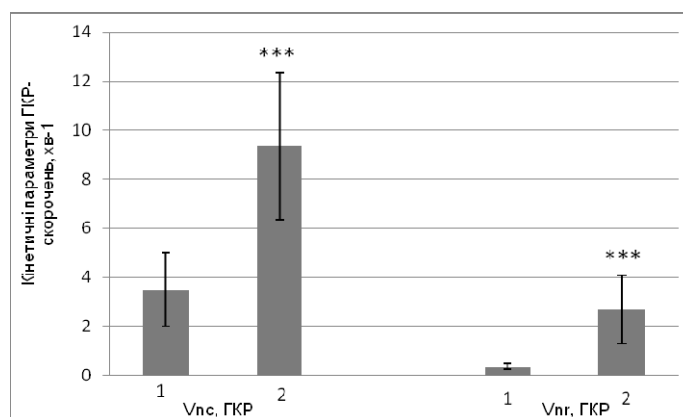


Рис.3. Вплив нанокристалічного діоксиду церію (2) на зміни максимальної нормованої швидкості фаз скорочення ( $V_{nc}$ ) та розслаблення ( $V_{nr}$ ) скорочень, викликаних гіперкалієвим розчином (ГКР) гладеньких м'язів товстої кишки у старих щурів:  $M \pm SD$ ,  $n=10$

\*\*\* –  $p < 0,001$  в порівнянні з відповідними контрольними групами щурів (1).

У контролі амплітуда Ах-викликаних скорочень гладеньких м'язів товстої кишки молодих щурів у середньому становила  $8,7 \pm 2,2$  мН, а співвідношення фазного і тонічного компонентів було  $24,6 \pm 8,9\%$ . З віком амплітуда Ах-скорочень гладеньких м'язів товстої кишки зростала до  $15,6 \pm 10,2$  мН, однак співвідношення фазного і тонічного складових скоротливих відповідей зменшувалось до  $10,9 \pm 0,7\%$ . Отримані дані співпадають з дослі-

дженнями, в яких було показано, що Ах збільшував силу скорочення в товстій кишці молодих та старих щурів [13]. У старих щурів кінетичні характеристики Ах-скорочень залишались аналогічними до показників, одержаних для кишечника молодих тварин.

10-денне введення НДЦ викликало зміни параметрів Ах-викликаних скорочень. У молодих щурів зростала амплітуда Ах-викликаних скорочень на 177 % ( $p < 0,001$ ).

Співвідношення фазного і тонічного складових скоротливих відповідей також зростало на 30,9 % ( $p < 0,05$ ). У старих щурів ці показники мали тенденцію до зростання. А саме, амплітуда Ах-викликаних скорочень збільшувалася з  $15,5 \pm 10,2$  мН до  $16,9 \pm 4,3$  мН ( $p > 0,05$ ), а співвідношення фазного і тонічного складових – на 79% ( $p < 0,05$ ). Оскільки співвідношення фазного і тонічного компонентів АХ-скорочень є показником ефективності

активації сигналу через мускаринові ацетилхолінові рецептори, то наші результати вказують на покращення ефективності активації сигналу після дії НДЦ.

Кінетичні параметри також зазнавали змін. Швидкість скорочення зростала як у молодих, так і у старих щурів після дії НДЦ на 17 % та 34,3 %, відповідно (Рис.4). Проте статистично значущих змін фази розслаблення Ах-викликаних скорочень не відбувалося за дії НДЦ.

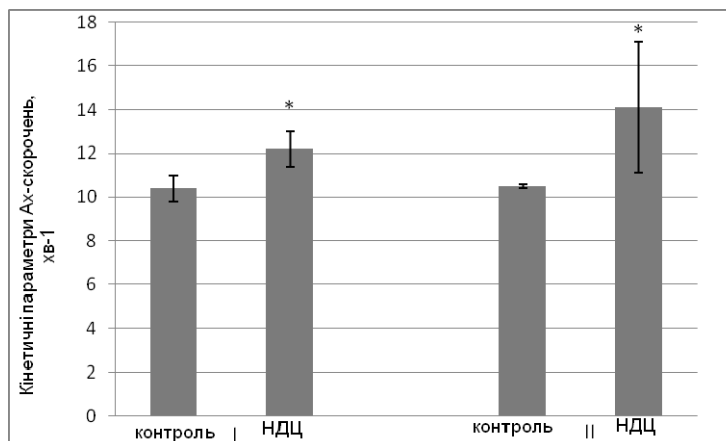


Рис.4. Вплив нанокристалічного діоксиду церію (НДЦ) на швидкість фази скорочення ( $V_{nc}$ ), викликаного ацетилхоліновим розчином (Ах) гладеньких м'язів товстої кишки у щурів 3 (I) та 24 місяців (II):  $M \pm SD$ ,  $n=10$ , \* –  $p < 0,05$  в порівнянні з відповідними контрольними групами щурів

У старих щурів за дії НДЦ спостерігається значне посилення скорочень товстої кишки, активованих деполіризацією плазматичної мембрани. Оскільки головний внесок у генерування цих скорочень в гладеньких м'язах шлунково-кишкового тракту роблять іони  $Ca^{2+}$ , які входять в міоцити через потенціалкеровані  $Ca^{2+}$ -канали L-типу, можна припустити, що саме вони є однією з можливих ефektorних ланок при дії нанокристалічного діоксиду церію. Варто відзначити також значне пришвидшення процесу розслаблення гіперкалієвої контрактури в групі старих щурів, що отримували НДЦ. Воно може бути пов'язане з рядом клітинних процесів, зокрема, такий ефект може свідчити про активацію систем викачування іонів  $Ca^{2+}$  з міоплазми після збудження (можливі ефektorні білки –  $Ca^{2+}$ -помпи плазматичної мембрани та/або саркоплазматичного ретикулу, а також  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ -обмінник). Не можна відкидати дію НДЦ через активацію сигналу в мускаринових ацетилхолінових рецепторах, оскільки НДЦ збільшував параметри Ах-скорочень. Отже, можливо в товстій кишці НДЦ опосередковує свою дію через декілька ефektorних ланок.

#### Висновки:

1. З віком в гладеньких м'язах шлунку зменшувалася максимальна нормована швидкість фаз скорочення та розслаблення скорочень, викликаних гіперкалієвим розчином.

2. У старих щурів в гладеньких м'язах товстої кишки зменшувалася амплітуда, максимальна нормована швидкість фаз скорочення та розслаблення скорочень, викликаних гіперкалієвим розчином.

3. Нанокристалічний діоксид церію збільшував амплітуду, максимальну нормовану швидкість фаз скорочення та розслаблення скорочень, викликаних гіперкалієвим розчином в гладеньких м'язах шлунку та товстої кишки у старих щурів.

**Acknowledgements:** Робота виконана за фінансування Державного агентства з питань науки, інновацій та інфор-

матизації України в рамках виконання науково-дослідної роботи "Експериментальне обґрунтування застосування нанокристалічного діоксиду церію в гастроентерології, проктології і геріатрії", № державної реєстрації 0113U006058.

#### Список використаних джерел

1. Talley NJ, O'Keefe EA, Zinsmeister AR. Prevalence of gastrointestinal symptoms in the elderly: a population-based study // *Gastroenterology*. – 1992. – Vol. 102(3). – P. 895-901.
2. Morley J.E. Constipation and irritable bowel syndrome in the elderly // *Clin. Geriatr. Med.* – 2007. – Vol. 23. – P. 823-832, Sarma S.K. Physiology and pathophysiology of colonic motor activity // *Dig. Dis. Sci.* – 1999. – Vol. 36. – P. 998-1018.
3. Tayem RF, Shehadeh IN, Abumweis SS. Physical inactivity, water intake and constipation as risk factors for colorectal cancer among adults in Jordan // *Asian Pac J. Cancer. Prev.* – 2013. – Vol. 14(9). – P. 5207-5212.
4. Ewe K, Ueberschaer B, Press AG. Influence of senna, fibre, and fibre + senna on colonic transit in loperamide-induced constipation // *Pharmacology*. – 1993. – Vol. 47. – P. 242-8.
5. Ewe K, Ueberschaer B, Press A.G., Kurreck C., Klump M. Effect of lactulose, lactulose and bisacodyl on gastro intestinal transit studied by metal detector // *Aliment Pharmacol. Ther.* – 1995. – Vol. 9, №1. – P. 69-73.
6. Burdya Th.V., Kosterin S.A. // *Kinetic analysis of smooth muscle relaxation*. – *Gen. Physiol. Biophys.* 1991. №10. P. 589-598.
7. Иванова О.С., Шекунова Т.О., Иванов В.К., Щербак А.Б., Попов А.Л., Давыдова Г.А., Селезнева И.И., Колиця Г.П., Третьяков Ю.Д. Одностадийный синтез коллоидных растворов диоксида церия для биомедицинского применения // *Докл. Акад. наук*. 2011. Т.437. №5. С.638–641.
8. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1998, 459 с.
9. Kuriyama H., Kitamura K., Itoh T., Inoue R. Physiological features of visceral smooth muscle cells, with special reference to receptors and ion channels // *Physiological rev.* – 1998. – Vol. 78, №3. – P. 811–889.
10. Ibitayo A.I., Sladick J., Tuteja S. HSP27 in signal transduction and associate ion with contractile proteins in smooth muscle cells // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 277. – P. G445-54.
11. Roberts D., Gelperin D., Wiley J.W. Evidence for age-associated reduction in acetylcholine release and smooth muscle response in the rat colon // *Am. J. Physiol.* – 1994. – Vol. 267. – P. G515-22.
12. Xiong Z., Sperelakis N., Noffsinger A., Fenoglio-Preiser C. Potassium current in rat colonic smooth muscle cell and changes during development and aging // *Pflügers. Arch.* – 1995. – Vol. 430. – P. 563-72.
13. Abalo R., Vera G., Rivera A.J., Martín M.I. Age-related changes in the gastro intestinal tract: a functional and immunohistochemical study in guinea-pig ileum // *Life Sci.* – 2007. – Vol. 80(26). – P. 2436-45.

Надійшла до редколегії 28.05.14

Е. Ефименко, асп., Ю. Савченко, канд. биол. наук, Н. Нурищенко, д-р биол. наук  
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ,  
Н. Жолобак, канд. биол. наук, Н. Спивак, чл.-кор.  
Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины Киев

### СОКРАТИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЛАДКИХ МЫШЦ ЖЕЛУДКА И ТОЛСТОЙ КИШКИ У КРЫС ПОСЛЕ 10-ДНЕВНОГО ВВЕДЕНИЯ НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ДИОКСИДА ЦЕРИЯ

Установлено, что нанокристаллический диоксид церия (НДЦ) в желудке молодых крыс увеличивал соотношение фазного и тонического компонентов сокращений вызванных гиперкалиевым раствором (ГКР) на 21,9% ( $p < 0,05$ ). У старых крыс в желудке после действия НДЦ увеличивалась амплитуда сокращений на 32,1% ( $p < 0,05$ ), соотношение фазного и тонического компонентов на 122% ( $p < 0,01$ ), скорость развития сократительного ответа ( $V_{nc}$ ) на 138,8% ( $p < 0,01$ ), а скорость фазы расслабления ( $V_{nr}$ ) на 128,1% ( $p < 0,01$ ). В желудке старых крыс возрастала  $V_{nr}$  Ах-сокращений на 90% ( $p < 0,001$ ). В толстой кишке старых крыс НДЦ увеличивал амплитуду ГКР-сокращений на 350% ( $p < 0,001$ ), соотношение фазного и тонического составляющих на 59,5% ( $p < 0,05$ ),  $V_{nc}$  и  $V_{nr}$  на 166,8% и 644% ( $p < 0,001$ ), соответственно. У молодых крыс НДЦ увеличивал амплитуду Ах-сокращений на 177% ( $p < 0,001$ ), а у старых крыс – соотношение фазного и тонического составляющих на 79% и  $V_{nc}$  на 34,3% ( $p < 0,05$ ). Таким образом, НДЦ усиливал сократительную активность гладких мышц пищеварительного тракта.

Ключевые слова: нанокристаллический диоксид церия, сократительная активность, желудок, толстая кишка.

O. Iefimenko, PhD stud., O. Savchenko, PhD., N. Nyrischenko, DSc.  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv,  
N. Zholobak, Ph.D., M. Spivak, corresponding member  
Danylo Zaboloty Institute of Microbiology and Virology National Academy of Science of Ukraine

### CONTRACTILE ACTIVITY OF SMOOTH MUSCLES OF THE STOMACH AND COLON IN RATS UNDER 10-DAYS INJECTION OF NANOCRYSTALLINE CERIUM DIOXIDE

It was established that (nanocrystalline cerium dioxide) NCD increased the ratio of phase and tonic components of contractions induced by hyper potassium solution by 21,9% ( $p < 0,05$ ) in the stomach of young rats. NCD increased the amplitude of contractions by 32,1% ( $p < 0,05$ ), the ratio of phase and tonic components by 122% ( $p < 0,01$ ), the rate of contractile responses ( $V_{ns}$ ) by 138,8% ( $p < 0,01$ ), and the rate of relaxation phase ( $V_{nr}$ ) by 128,1% ( $p < 0,05$ ) in stomach of old rats. In the stomach of old rats  $V_{nr}$  of Ach-contractions increased by 90%. In the colon of old rats NCD increased the amplitude of HPS-contractions by 350% ( $p < 0,001$ ), the ratio of phase and tonic components by 59,5% ( $p < 0,05$ ),  $V_{ns}$  and  $V_{nr}$  by 166,8% and 644% ( $p < 0,001$ ), respectively. In young rats NCD increased the amplitude of Ach-contractions by 177% ( $p < 0,01$ ), while in old rats – the ratio of phase and tonic components of 79% and  $V_{ns}$  by 34,3% ( $p < 0,05$ ). Thus, NCD increased the contractile activity of smooth muscles of the digestive tract.

Keywords: nanocrystalline cerium dioxide, contractile activity, stomach, colon.

УДК 612.3+612.7+577

С. Пилипенко, докторант, О. Шелюк, канд. біол. наук,  
Ю. Цейслер, канд. біол. наук, Н. Нурищенко, д-р біол. наук,  
Т. Берегова, д-р біол. наук  
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

### ВПЛИВ БЛОКАДИ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ L-ТИПУ НА МОТОРИКУ ШЛУНКА У ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ОМЕПРАЗОЛУ

Встановлено, що після 28-денного пригнічення секреції гідрохлоридної кислоти в шлунку щурів омепразолом частота спонтанних скорочень в шлунку не змінювалась, а амплітуда спонтанних скорочень та індекс спонтанної моторної активності зменшувались на 79,7% ( $p < 0,01$ ) та 10,3% ( $p < 0,05$ ), відповідно. Також достовірно послаблювалась моторна активність шлунка, стимульована карбахоліном, і зменшувались  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ -АТФазна та  $K^+$ (EGTA)-АТФазна активності актоміозину гладеньких м'язів шлунка. В групі щурів, яким упродовж 28 днів одночасно з омепразолом вводили блокатор рН-чутливого рецептора гастринових клітин верапаміл, спонтанна та стимульована моторна активність шлунка була сильнішою у порівнянні з групою щурів, яким вводили лише омепразол. При цьому показники моторики не досягали контрольних значень.  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ -АТФазна активність актоміозину зростала, а  $K^+$ (EGTA)-АТФазна активність не змінювалась у порівнянні з щурами, яким вводили один омепразол. Так як верапаміл суттєво запобігає розвитку гіпергастринемії, зроблено висновок, що гіпергастринемія є лише одним з механізмів порушення моторики шлунка після тривалого введення омепразолу.

Ключові слова: шлунок, моторика, актоміозин, АТФаза, омепразол, верапаміл.

**Вступ.** Одними з головних причин шлунково-кишкових розладів є зміни в моторній функції шлунково-кишкового тракту (ШКТ), в основі яких лежать порушення скорочення гладеньких м'язів [3, 4, 9, 13]. Зміни скоротливої активності гладеньких м'язів ШКТ, зокрема шлунку щурів, можуть бути пов'язані з порушенням взаємодії скорочувальних білків у складі функціональних комплексів, що на молекулярному рівні забезпечують процес скорочення [10]. АТФаза активність є однією з основних функціональних характеристик комплексу скоротливих білків – актоміозину. Функціонування АТ-Фази, як і процес скорочення в цілому, залежить від наявності катіонів, одним з основних серед яких є кальцій. В регуляції кальцієвого гомеостазу важлива роль належить кальцій-чутливому рецептору (CaR), який експресується в багатьох тканинах, в тому числі шлунково-кишкового тракту. Присутність CaR на гастрин-секретуючих G клітинах шлунку, а також його активація  $Ca^{2+}$ , амінокислотами та підвищенням рН дає змогу

припустити, що CaR функціонує як фізіологічний сенсор регуляції секреції гастрину та гідрохлоридної кислоти [6]. Як відомо, омепразол, що належить до препаратів – інгібіторів протонної помпи (ІПП), блокує секрецію кислоти в шлунку (зростає рН), і тому може впливати на функціонування CaR, і тим самим на кальцієвий гомеостаз в G клітинах. Внаслідок чого рівень гастрину в сироватці крові зростає. Тривала гіпергастринемія призводить до розвитку гіперплазії і метаплазії, та є фактором ризику розвитку раку в слизовій оболонці шлунка. Тому пошук препаратів, що запобігають розвитку гіпергастринемії, є актуальною проблемою сучасної науки. Аналіз літератури дозволив нам виділити в якості кандидата на такий препарат блокатор кальцієвих каналів верапаміл, адже за умов його блокади CaR G клітин не реагуюватиме на підвищення рН в порожнині шлунка та не розвиватиметься гіпергастринемія.

**Метою дослідження** було визначення впливу тривалого введення омепразолу та блокатора кальцієвих