



УДК 577.35

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ МЕХАНОКІНЕТИКИ СКОРОТЛИВОЇ АКТИВНОСТІ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ МІОМЕТРІЯ ЩУРІВ ЗА ДІЇ КАЛІКСАРЕНУ С-99 ТА УБАЇНУ

О. В. Цимбалюк

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64/13, Київ 01601, Україна
e-mail: otsimbal@univ.kiev.ua*

Відомо, що каліксарен із шифром С-99 селективно та з високою спорідненістю здатен інгібувати Na^+ , K^+ -АТФ-азу (порівняно з відомим інгібітором цього ензиму – убаїном) препаратів плазматичної мембрани гладеньком'язових клітин. Тому в роботі було здійснено співставлення закономірностей впливу каліксарену С-99 й убаїну (обидві сполуки в концентрації 10 мкМ) на спонтанні та індуковані (гіперкалієвим розчином, ацетилхоліном і окситоцином) скорочення поздовжніх гладеньких м'язів матки щурів. Скоротливу активність досліджували тензометрично в ізометричному режимі; аналіз кінетичних властивостей скорочень здійснювали із розрахунком нормованих максимальних швидкостей окремо фаз скорочення (V_{nc}) і розслаблення (V_{nr}). Убаїн і каліксарен С-99 односпрямовано змінювали спонтанну скоротливу активність, спричиняючи вірогідне підвищення амплітуди і частоти скорочень. Обидві сполуки однаковою мірою спричиняли зниження максимальної сили скоротливих відповідей (0,1 МО) скорочень, викликаючи також пришвидшення наростання сили скоротливих відповідей (це відобразилось у підвищенні параметра V_{nc}). Також каліксарен С-99 і убаїн не змінювали максимальну силу ацетилхолінових (10 мкМ) та K^+ -індукованих (80 мМ) скорочень і не впливали на характер наростання скоротливих відповідей (параметр V_{nc} залишався без змін). Чутливість швидкості розслаблення гладеньком'язових препаратів за дії убаїну і каліксарену С-99 залежала від характеру стимулювання скоротливих відповідей: у випадку окситоцинових скорочень вона знижувалась, а K^+ -індукованих скорочень – залишалася без змін. Отже, убаїн і каліксарен С-99 односпрямовано впливали на механокінетичні параметри спонтанних і викликаних агоністами та деполаризацією плазматичної мембрани скорочень міометрію щурів. Можна передбачити, що ефект каліксарену С-99 на функціонування гладеньких м'язів міометрію щурів є аналогічним до дії убаїну й опосередковується інгібуванням натрієвої помпи плазматичної мембрани.

Ключові слова: гладенькі м'язи, матка, скорочення, кінетичні параметри, каліксарен С-99, Na^+ , K^+ -АТФ-аза плазматичної мембрани.

ВСТУП

Na^+ , K^+ -АТФ-аза (натрієва помпа) – електрогенна іон-транспортувальна система плазматичної мембрани, яка здійснює енергозалежне перенесення іонів Na^+ і K^+ у співвідношенні 3:2. Вона забезпечує підтримання трансмембранного градієнта концентрацій цих катіонів, а також створює рушійну силу для вторинного активного транспорту амінокислот і цукрів [22].

Також дослідженнями останніх років підтверджено сигнальну роль молекул Na^+ , K^+ -АТФ-ази, розташованих у кавеолах, де вона є ключовою структурою мультипротеїнових комплексів – сигналом [20]. Порушення сигнальних шляхів за участі натрієвої помпи супроводжуються розвитком таких системних захворювань, як гіпертензія і ниркова недостатність, а також ускладнень вагітності й виношування плоду [13, 15]. В організмі ссавців синтезуються стероїдні речовини, які володіють приблизно однаковою здатністю інгібувати Na^+ , K^+ -АТФ-азу, але у цьому разі мають різноспрямований ефект на її сигнальну функцію: ендогенні убаїн-подібні сполуки мають доведену про-гіпертензивну дію, тоді як ендогенний дигоксин є їх природним антагоністом. Саме з порушенням синтезу і балансу цих груп стероїдів пов'язані вищезазначені патології [15]. Зокрема, відомо, що патології вагітності, які супроводжуються підвищенням артеріального тиску (індукована вагітністю артеріальна гіпертензія та прееклампсія), пов'язані з підвищенням загальної концентрації та порушенням співвідношення різних ендогенних кардіостероїдів [9]. Отже, не втрачає актуальності створення і дослідження на різних рівнях організації (молекулярному, клітинному, тканинному та цілісного організму) властивостей нових фармакологічних засобів зі спрямованою активністю щодо натрієвої помпи.

Численними дослідженнями останніх років показано, що каліксарени (синтетичні сполуки – циклічні олігомери фенолів, функціоналізовані хімічними групами) є перспективними прототипами фармакологічних засобів, оскільки вибірково впливають на окремі ензими та іон-транспортуючі системи клітини [6, 17]. Зокрема, для калікс[4]аренів з шифрами С-97, С-99 і С-107 доведена здатність селективно і з високою спорідненістю (порівняно з убаїном) інгібувати Na^+ , K^+ -АТФ-азу ізольованих препаратів плазматичної мембрани клітин міометрія свині [1, 4, 23]. Також нами була виявлена здатність каліксарену С-107 інгібувати Na^+ , K^+ -АТФ-азу гепатоцитів і змінювати функціонування гладеньких м'язів товстого кишечника щурів не лише за короткочасової дії на ізольовані препарати, але й у разі хронічного застосування в умовах *in vivo* [2, 3]. Тому важливим є подальше вивчення закономірностей впливу зазначених каліксаренів на інші гладенькі м'язи.

Метою цієї роботи було здійснити порівняльне дослідження впливу каліксарену С-99 та убаїну на скоротливу активність поздовжніх гладеньких м'язів матки щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти проводили на самках нелінійних білих щурів популяції віварію ННЦ “Інститут біології” Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Усі маніпуляції з тваринами проводили згідно з Міжнародною конвенцією роботи з тваринами та Законом України “Про захист тварин від жорстокого поводження”. Умертвіння щурів здійснювали введенням летальної дози пропофолу (Sigma).

Скоротливу активність досліджували тензометрично в ізометричному режимі на препаратах позадвожніх м'язів рогів матки (середній розмір – 2×10 мм). Гладеньком'язові смужки (ГМС) поміщали в робочу камеру (об'єм 2 мл) з проточним розчином Кребса (швидкість протікання – 5 мл/хв), термостатовану при 37°C ; препаратам надавали пасивний натяг (5–10 мН) і залишали на 1 годину. Реєстрацію сигналів проводили, використовуючи електричний потенціометр Н339.

Для дослідів використовували розчин Кребса (мМ): 120,4 NaCl; 5,9 KCl; 15,5 NaHCO_3 ; 1,2 NaH_2PO_4 ; 1,2 MgCl_2 ; 2,5 CaCl_2 ; 11,5 глюкоза; рН розчину становив 7,4. Гіперкалієвий розчин, який містив іони K^+ у концентрації 80 мМ, готували способом ізотонічної заміни у вихідному розчині Кребса необхідної частини іонів Na^+ на еквімолярну кількість іонів K^+ . У роботі використовували ацетилхолін гідрохлорид (ефективна концентрація 10 мкМ) виробництва “Мосмедпрепараты” (Росія). Під час використання окситоцину (виробництва ЗАТ “Биолек”, Харків) його розчиняли в розчині Кребса до концентрації 0,1 МО.

Каліксарен С-99 було синтезовано в Інституті органічної хімії НАН України (відділ хімії фосфоранів) під керівництвом чл.-кор. НАНУ, професора В.І. Кальченка. Каліксарен С-99 попередньо розчиняли в ДМСО і в концентрації 10 мкМ вносили у розчин Кребса (остаточно аліквота розчину органічного розчинника становила 0,1% від загального об'єму цього розчину) за 20 хв до вивчення механічної активності препаратів. Контрольні скорочення досліджували в розчинах, які містили 0,1% ДМСО.

Аналіз кінетичних властивостей скорочень здійснювали згідно з методом, описаним раніше [7]. У процесі аналізу розраховували незалежні від амплітуди скоротливих відповідей показники – нормовані максимальні швидкості фаз скорочення (V_{nc}) та розслаблення (V_{nr}).

Експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики із використанням програми OriginPro 8. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами вибірок використовували парний t -критерій Стьюдента. 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 ($M \pm m$) і вказано кількість дослідів n .

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Відомо, що блокування Na^+, K^+ -АТФ-ази плазматичної мембрани спричиняє деполяризацію і порушення трансмембранних іонних градієнтів клітин гладеньких м'язів, призводячи до модуляції їх функціонування [5, 19]. Тому нами початково було досліджено дію речовин-інгібіторів натрієвої помпи (каліксарену С-99, а також для порівняння – убаїну) на спонтанну скоротливу активність гладеньких м'язів матки щурів.

Попередня інкубація препаратів гладеньких м'язів у розчині Кребса з каліксареном С-99 або убаїном (обидва у концентрації 10 мкМ) призводила до активації спонтанних скорочень (підвищення амплітуди і зростання частоти), яка проявлялася з перших хвилин дії речовин; при цьому рівень тону не зазнавав змін (рис. 1, А і Б). Так, під дією убаїну і С-99 частота спонтанних скорочень у середньому збільшувалася на $(29,3 \pm 12,4)\%$ ($p < 0,05$, $n = 6$) та $(37,2 \pm 14,1)\%$ ($p < 0,05$, $n = 7$), відповідно. Амплітуда скорочень за цих умов зростала на $(19,9 \pm 7,8)\%$ ($p < 0,05$, $n = 7$, за наявності убаїну) і $(26,2 \pm 7,6)\%$ ($p < 0,05$, $n = 7$, за наявності каліксарену).

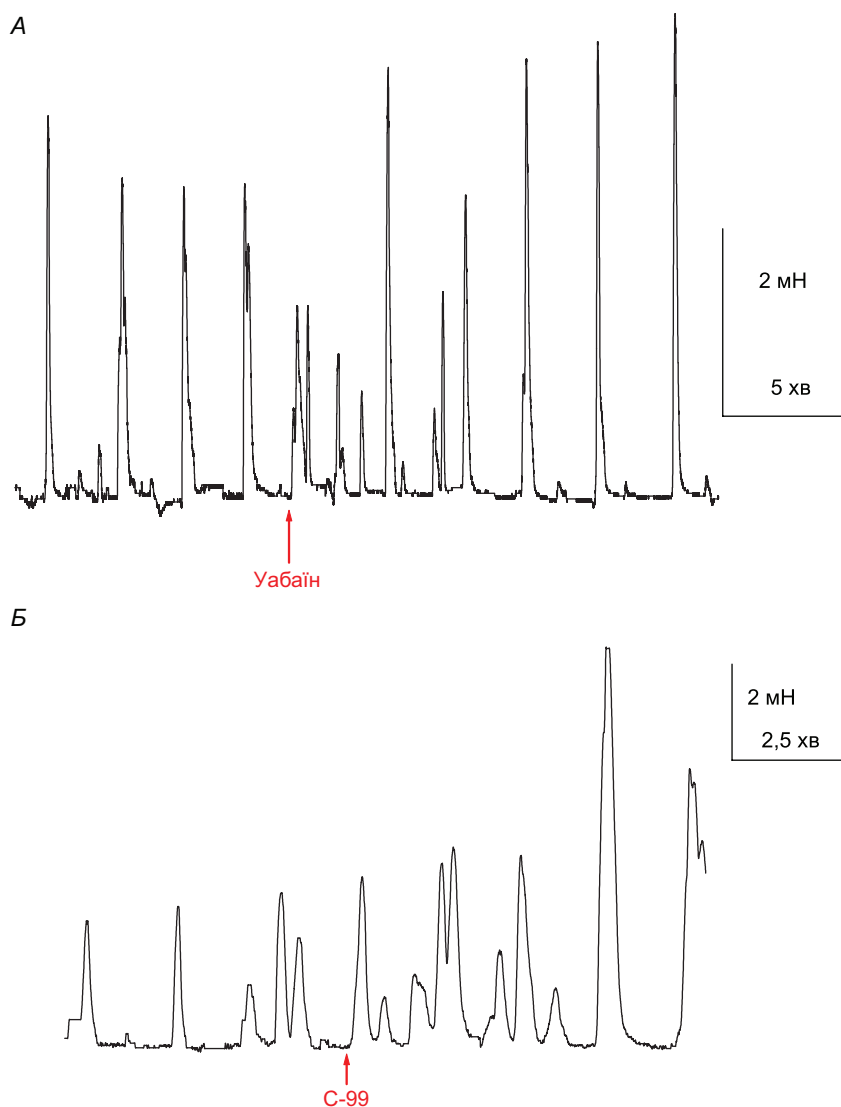


Рис. 1. Вплив уабайну (А) і каліксарену С-99 (Б) (обидві сполуки в концентрації 10 мкМ) на спонтанні скорочення гладеньких м'язів міометрію щурів. Наведено типові механограми

Fig. 1. Effect of ouabain (A) and calixarene C-99 (B) (both compounds at 10 μ M concentration) on spontaneous contractions of rat myometrium smooth muscles. The typical mechanogram

Аналіз характеру розвитку окремих спонтанних скорочень не виявив статистично значущих змін нормованих максимальних швидкостей фази скорочення та розслаблення (відповідно V_{nc} і V_{nr}) за наявності уабайну. За дії каліксарену С-99 нормована максимальна швидкість фази скорочення вірогідно збільшувалася на $(22,4 \pm 9,7)\%$ ($p < 0,05$, $n = 7$) порівняно з контролем, тоді як максимальна швидкість фази розслаблення не зазнавала вірогідних змін $(114,8 \pm 7,1)\%$, $p > 0,05$, порівняно з контролем, прийнятим за 100 %).

У наступній серії експериментів було досліджено викликані скорочення гладеньких м'язів матки за присутності убаїну і каліксарену С-99 (обидві сполуки у концентрації 10 мкМ). Для цього після попередньої інкубації протягом 20 хв гладеньком'язових смужок у присутності блокатора натрієвої помпи здійснювали аплікацію агоністів (ацетилхоліну або окситоцину), або заміну нормального розчину Кребса на гіперкалієвий розчин.

Скорочення, які активувалися K^+ -деполяризацією (80 мМ), не зазнавали змін за наявності як убаїну, так і каліксарену С-99 (рис. 2). Обидві речовини не лише не змінювали силу скоротливих відповідей, але й не впливали на характер наростання і спаду скорочень (показники нормованих максимальних швидкостей фаз скорочення V_{nc} та розслаблення V_{nr} залишалися на контрольному рівні).

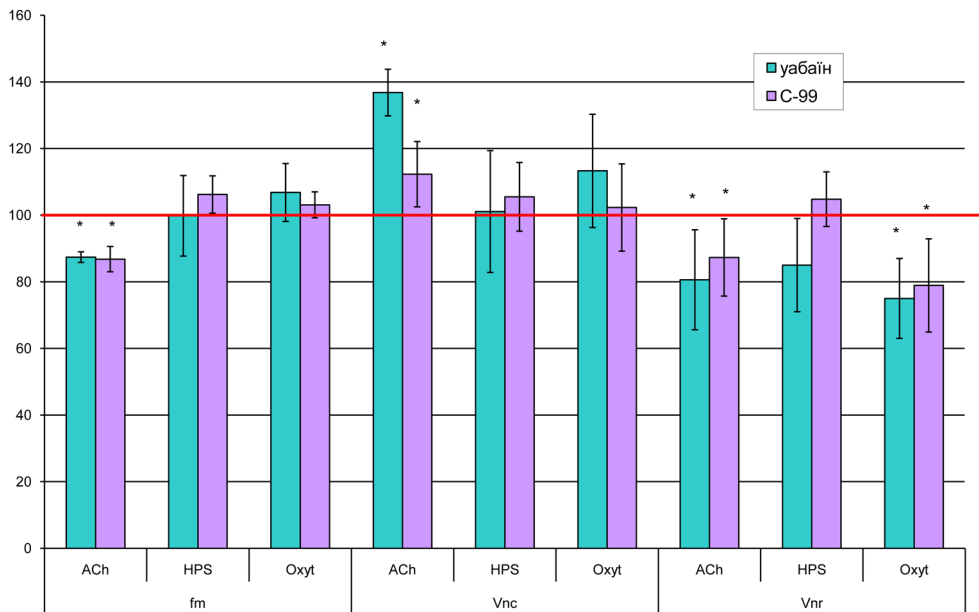


Рис. 2. Усереднені дані щодо впливу убаїну та каліксарену С-99 (обидві сполуки в концентрації 10 мкМ) на максимальну силу (f_m) та нормовані максимальні швидкості фаз скорочення (V_{nc}) і розслаблення (V_{nr}) скорочень гладеньких м'язів міометрію щурів. Скорочення були індуковані аплікуванням ацетилхоліну (ACh, 10 мкМ), окситоцину (Oxyt, 0,1 МО) та гіперкалієвого розчину (HPS, 80 мМ). Дані представлені як $M \pm m$ ($n = 6-9$). За 100 % було прийнято відповідні параметри в контролі.

Механокінетичні параметри розраховували із використанням методу [7]

Fig. 2. Influence of ouabain and calixarene C-99 (both compounds at a concentration of 10 μ M) on maximum force (f_m) and the normalized maximal velocity of contraction (V_{nc}) and relaxation (V_{nr}) phases of the rat myometrium smooth muscles. Contractions were caused by acetylcholine (ACh, 10 μ M), oxytocin (Oxyt, 0,1 IU) and high-potassium solution (HPS, 80 mM). Data are presented as $M \pm m$ ($n = 6-7$). Control parameters – 100 %.

Mechanokinetic parameters were calculated using described method [7]

Також досліджували вплив блокаторів Na^+, K^+ -АТФ-ази на скорочення гладеньких м'язів міометрію, активовані нейромедіатором ацетилхоліном і утеротонічним гормоном окситоцином. Варто відзначити, що рецептори до ацетилхоліну й оксито-

цину спряжені з $G_{q/11}$ -білками, а їх стимулювання призводить до посилення синтезу вторинних посередників інозитол-1,4,5-трифосфату і діацилгліцеролу [8, 18].

Обидві досліджені речовини спричиняли зниження амплітуди ацетилхолін-індукованих скорочень: у випадку убаїну на $(12,6 \pm 1,6)\%$ ($p < 0,05$, $n=7$) і каліксарену С-99 на $(13,2 \pm 3,8)\%$ ($p < 0,05$, $n=9$). Кінетичний аналіз показав, що за наявності в інкубаційному середовищі як убаїну, так і С-99, має місце прискорення розвитку скоротливих відповідей, яке відобразилось у зростанні нормованих максимальних швидкостей V_{nc} на $(36,8 \pm 7,0)\%$ ($p < 0,05$, $n=7$) та $(12,3 \pm 9,8)\%$ ($p < 0,05$, $n=9$), відповідно. І навпаки, в цих умовах розслаблення м'язових препаратів відбувалося повільніше порівняно з контролем: у випадку убаїну V_{nr} знижувалась на $(19,4 \pm 15,0)\%$ ($p < 0,05$, $n=7$) та за наявності каліксарену С-99 – на $(12,7 \pm 9,3)\%$ ($p < 0,05$, $n=9$). Отже, каліксарен С-99 впливав на всі параметри ацетилхолін-індукованих скорочень (силу скорочення, нормовані максимальні швидкості V_{nc} і V_{nr}) аналогічно до дії класичного інгібітора натрієвої помпи убаїну.

У випадку окситоцин-індукованих скорочень за дії каліксарену С-99 і убаїну нами не було виявлено статистично значущих змін амплітуди максимального напруження та показника нормованої максимальної швидкості наростання сили скорочення (V_{nc}). Але обидві ці речовини однаковою мірою уповільнювали процес розслаблення, спричиняючи вірогідне зниження показника V_{nr} у середньому на $(25,0 \pm 11,9)\%$ ($p < 0,05$, $n=6$; убаїн) та $(21,1 \pm 14,0)\%$ ($p < 0,05$, $n=7$; каліксарен С-99).

У роботі в порівняльному аспекті було досліджено ефекти загальновідомого блокатора Na^+, K^+ -АТФ-ази серцевого глікозиду убаїну та каліксарену С-99, первинний скринінг ефектів якого вказує на його здатність до селективного інгібування цього ензиму. Відомо, що аплікування убаїну на гладенькі м'язи в умовах *in vitro* та *in situ* призводить до деполяризації плазматичної мембрани (у середньому на 6–7 мВ), а також до збільшення внутрішньоклітинної концентрації іонів Na^+ [10, 14, 21]. Спектроскопічними дослідженнями було також виявлене убаїн-викликане підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca^{2+} , яке, ймовірно, є наслідком входу Ca^{2+} через потенціалкеровані канали і реверсної роботи Na^+/Ca^{2+} -обмінника плазматичної мембрани [11].

Одержані нами результати щодо впливу убаїну на скоротливість міометрію щурів загалом узгоджуються з даними інших дослідників [5, 12, 16]. Так, на препаратах міометрію вагітних жінок показано, що аплікування убаїну ($3 \cdot 10^{-7}$ М) призводить до активації спонтанних скорочень [16]. Також дослідженнями Р. Ausina з колегами встановлено, що убаїн за Ca^{2+} -залежним шляхом спричиняє пригнічення окситоцинових і ацетилхолінових скорочень, змінюючи при цьому як їх максимальну силу фазної скоротливої відповіді, так і середню амплітуду наступного осциляторного компонента [5]. Разом із тим, K^+ -індуковані скорочення міометрію щурів були нечутливими навіть до високих концентрацій (0,3 мМ) убаїну.

Співставляючи результати щодо впливу убаїну та каліксарену С-99 на механокінетичні параметри скоротливих відповідей, а також з огляду на попередньо виявлені закономірності впливу цих речовин на препарати плазматичних мембран [1, 4, 23], можна передбачити, що дія каліксарену С-99, принаймні значною мірою, опосередковується пригніченням функціонування Na^+ , K^+ -АТФ-ази плазматичної мембрани гладеньком'язових клітин міометрію.

ВИСНОВКИ

Уабаїн і каліксарен С-99 (обидві сполуки в концентрації 10 мкМ) змінюють спонтанну скоротливу активність, спричиняючи вірогідне підвищення амплітуди і частоти скорочень.

Обидві сполуки однаковою мірою спричиняють зниження сили окситоцинових (0,1 МО) скорочень, викликаючи також пришвидшення наростання сили скоротливих відповідей (це відобразилось у підвищенні параметра V_{nc}).

Каліксарен С-99 і уабаїн не змінюють максимальну силу ацетилхолінових (10 мкМ) та K^+ -індукованих (80 мМ) скорочень, не впливаючи на характер наростання скоротливих відповідей (параметр V_{nc} залишився без змін). Чутливість швидкості розслаблення гладеньком'язових препаратів за дії уабаїну і каліксарену С-99 залежить від характеру стимулювання скоротливих відповідей: у випадку окситоцинових скорочень знижується, а для K^+ -індукованих скорочень – залишається без змін.

Загалом, уабаїн і каліксарен С-99 односпрямовано змінюють механокінетичні параметри спонтанних і викликаних агоністами та деполяризацією плазматичної мембрани скорочень міометрію щурів.

Отже, можна передбачити, що ефект каліксарену С-99 на функціонування гладеньких м'язів міометрію щурів є аналогічним до дії уабаїну і, принаймні значною мірою, опосередковується інгібуванням натрієвої помпи плазматичної мембрани.

ПОДЯКА

Автор висловлює щиро подяку членові-кореспонденту НАН України, професору С.О. Костеріну за плідну співпрацю у галузі вивчення біофізикохімічних механізмів дії каліксаренів на трансмембранний обмін катіонів у гладеньких м'язах і на електро- та фармакомеханічне спряження в них, зокрема, за участь в аналізі й обговоренні одержаних результатів щодо дії каліксарену С-99. Також автор щиро вдячна членові-кореспонденту НАН України, професору В.І. Кальченку за люб'язно наданий для досліджень каліксарен С-99.

1. Лабинцева Р.Д., Слінченко Н.М., Векліч Т.О. та ін. Порівняльне дослідження впливу каліксаренів на Mg^{2+} -залежні АТФ-гідролазні ферментативні системи гладеньком'язових клітин матки. **Укр. біохім. журнал**, 2007; 79 (3): 44–54.
2. Цимбалюк О.В., Костерін С.О., Кальченко В.І., Родік Р.В. Механокінетичні параметри скоротливої активності гладеньких м'язів саесит щура за умов хронічної дії каліксарену С107 *in vivo*. **Фізика живого**, 2010; 18(1): 47–51.
3. Цимбалюк О.В., Костерін С.О., Кальченко В.І., Родік Р.В. Порівняльне вивчення в досліді *in vitro* та *in vivo* впливу каліксарену С107 та уабаїну на Na^+, K^+ -АТФ-азну активність в плазматичних мембранах гепатоцитів щурів. **Укр. біохім. журнал**, 2010; 82(4): 78–85.
4. Цимбалюк О.В., Онуфрійчук О.В., Векліч Т.О. та ін. Порівняльне дослідження впливу оуабаїну і каліксарен біс-гідроксиметилфос-фонові кислоти на активність Na^+/K^+ -АТФази на міханокінетику процесу "скорочення-розслаблення" гладенького м'язу. **Фізика живого**, 2006; 14(1): 53–72.
5. Ausina P., Savineau J.P., Hernandez J.S. et al. Effect of inhibition of the electrogenic Na^+/K^+ pump on the mechanical activity in the rat uterus. **Fundam. Clin. Pharmacol**, 1996; 10: 38–46.

6. Baldini L., Casnati A., Sansone F., Ungaro R. Calixarene-based multivalent ligands. **Chem. Soc. Rev.**, 2007 Feb; 36(2): 254–66.
7. Burdyga Th.V., Kosterin S.A. Kinetic analysis of smooth muscle relaxation. **Gen. Physiol. Biophys.**, 1991; 10: 589–598.
8. Fluoroaluminates mimic muscarinic-and oxytocin-receptor-mediated generation of inositol phosphates and contraction in the intact guinea-pig myometrium. Role for a pertussis/cholera-toxin-insensitive G protein. **Biochem. J.**, 1988; 255: 705–713.
9. Jacobs B.E., Liu Y., Pulina M.V. et al. Normal pregnancy: mechanisms underlying the paradox of a ouabain-resistant state with elevated endogenous ouabain, suppressed arterial sodium calcium exchange, and low blood pressure. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.**, 2012; 302(6): H1317–H1329.
10. Matchkov V.V. Mechanisms of cellular synchronization in the vascular wall. Mechanisms of vasomotion. **Dan. Med. Bull.**, 2010; 57(10): B4191.
11. Matchkov V.V., Gustafsson H., Rahman A. et al. Interaction Between Na⁺/K⁺-Pump and Na⁺/Ca²⁺-Exchanger Modulates Intercellular Communication. **Circ. Res.**, 2007; 100: 1026–1035.
12. Matthews E. K., Sutte M.C. Ouabain-induced changes in the contractile and electrical activity, potassium content, and response to drugs, of smooth muscle cells. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, 1967; 45(509): 509–520.
13. Koltsova S.V., Trushina Yu., Haloui M. et al. Ubiquitous [Na⁺]_i/[K⁺]_i-Sensitive Transcriptome in Mammalian Cells: Evidence for Ca²⁺_i-Independent Excitation-Transcription Coupling. **PLoS ONE** 7(5): e38032. doi:10.1371/journal.pone.0038032.
14. Ortega A., Aleixandre A. Role of Na⁺/K⁺-ATPase in the high extracellular calcium-induced impairment of rabbit aorta contractile activity. **Vascul. Pharmacol.**, 2004; 41(2): 75–81.
15. Padilha A.S., Salaiques M., Vassallo D.V. et al. Hypertensive effects of the iv administration of picomoles of ouabain. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 2011; 44(9): 933–938.
16. Parkington H.C., Tonta M.A., Davies N.K. et al. Hyperpolarization and slowing of the rate of contraction in human uterus in pregnancy by prostaglandins E2 and f2alpha: involvement of the Na⁺ pump. **J. Physiol.**, 1999; 1, 514(Pt 1): 229–243.
17. Perret F., Coleman A.W. Biochemistry of anionic calix[n]arenes **Chem. Commun. (Camb)**, 2011; 14; 47(26): 7303-19.
18. Phillippe M., Chien E.K. Intracellular signaling and phasic myometrial contractions. **J. Soc. Gynecol. Investig.**, 1998; 5(4): 169–177.
19. Quinn K., Guibert C., Beech D.J. Sodium-potassium-ATPase electrogenicity in cerebral precapillary arterioles. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.**, 2000; 279: H351–H360.
20. Schoner W., Scheiner-Bobis G. Endogenous and exogenous cardiac glycosides: their roles in hypertension, salt metabolism, and cell growth. **Am. J. Physiol. Cell. Physiol.**, 2007; 293: C509–C536.
21. Schoner W., Scheiner-Bobis G. Role of endogenous cardiotoxic steroids in sodium homeostasis. **Nephrol. Dial. Transplant.**, 2008; 23: 2723–2729.
22. Suhail M. Na⁺,K⁺-ATPase: Ubiquitous Multifunctional Transmembrane Protein and its Relevance to Various Pathophysiological Conditions. **Clin. Med. Res.**, 2010; 2(1): 1–17.
23. Veklich T., Shkrabak O., Kosterin S. A comparative study of influence of the calixarenes on the activity Na⁺,K⁺-ATPase and Mg²⁺-ATPase in smooth muscle sarcolemma. **Annales Universitatis Mariae Curie-Sclodowska**, 2008; XXI, 1(45): 253–255.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE MECHANOKINETICS OF CONTRACTILE ACTIVITY OF MYOMETRIUM SMOOTH MUSCLES UNDER CALIXARENE C-99 AND OUBAIN ACTION

O. V. Tsybalyuk

*Kyiv National Taras Shevchenko University, 64/13, Volodymyrska St., Kyiv 01601, Ukraine
e-mail: otsimbal@univ.kiev.ua*

It is known that calix[4]arene with cipher C-99 selectively and with high affinity capable of inhibiting the Na^+ , K^+ -ATPase (compared with a known inhibitor of this enzyme – ouabain) of smooth muscle cells plasma membrane preparations. Therefore, the work was carried out comparative study of influence calixarene C-99 and ouabain (both compounds at a concentration of 10 μM) on spontaneous and caused (high-potassium solution, acetylcholine and oxytocin) contractions of the rat uterus longitudinal smooth muscles. Contractile activity studied tensometrically in isometric mode, analysis of the kinetic properties of contractions performed the calculation of the normalized maximal velocity of contraction (V_{nc}) and relaxation (V_{nr}) phases. Ouabain and calixarene C-99 unidirectional changed the spontaneous contractile activity, causing a significant increase in the amplitude and frequency of contractions. Both compounds are equally causing decrease in maximum force oxytocin-evoked (0.1 IU) contractions, also causing acceleration the growth of force (this is reflected in the increasing parameter V_{nc}). Also calixarene C-99 and ouabain not change the maximum force of acetylcholine- (10 μM) and K^+ -induced (80 mM) contractions and do not affect the character of growth of contractile responses (V_{nc} parameter remains unchanged). The responsiveness of relaxation velocity for the actions ouabain and calixarene C-99 depend on the nature of stimulation: in the case of oxytocin-evoked contractions it decreased and for K^+ -induced contractions – remained unchanged. Thus, ouabain and calixarene C-99 unidirectional changed the mechanokinetic parameters of spontaneous, agonist- and depolarization-induced contractions of rat myometrium. These results suggest that the effect of calixarene C-99 on the rat uterus smooth muscles is similar to the action of ouabain and is caused by inhibition of plasma membrane sodium pump.

Keywords: smooth muscle, uterus, contraction, kinetical parameters, calixarene C-99, plasma membrane Na^+ , K^+ -ATPase.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНОКІНЕТИКИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛАДКИХ МЫШЦ МИОМЕТРИЯ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ КАЛИКСАРЕНА С-99 И УБАИНА

О. В. Цимбалюк

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
ул. Владимирская, 64/13, Киев 01601, Украина
e-mail: otsimbal@univ.kiev.ua*

Известно, что каликс[4]арен с шифром С-99 селективно и с высоким сродством способен ингибировать Na^+ , K^+ -АТФ-азу (по сравнению с известным ингибитором этого фермента – убаином) препаратов плазматической мембраны гладко-

мышечных клеток. Поэтому в работе было осуществлено сравнение закономерностей влияния каликсарена С-99 и убаина (оба соединения в концентрации 10 мкМ) на спонтанные и вызванные (гиперкалиевым раствором, ацетилхолином и окситоцином) сокращения продольных гладких мышц матки крыс. Сократительную активность исследовали тензометрически в изометрическом режиме, анализ кинетических свойств сокращений осуществляли с расчетом нормированных максимальных скоростей отдельно фаз сокращения (V_{nc}) и расслабления (V_{nr}). Убаин и каликсарен С-99 однонаправленно изменяли спонтанную сократительную активность, вызывая достоверное повышение амплитуды и частоты сокращений. Оба соединения в равной степени вызвали снижение максимальной силы окситоциновых (0,1 МЕ) сокращений, вызывая также ускорения нарастания силы сократительных ответов (это отразилось в повышении параметра V_{nc}). Также каликсарен С-99 и убаин не изменяли максимальную силу ацетилхолиновых (10 мкМ) и K^+ -вызванных (80 мМ) сокращений и не влияли на характер нарастания сократительных ответов (параметр V_{nc} оставался без изменений). Чувствительность скорости расслабления гладкомышечных препаратов при действии убаина и каликсарена С-99 зависела от характера стимулирования сократительных ответов: в случае окситоциновых сокращений она снижалась, а K^+ -вызванных сокращений – оставалась без изменений. В целом, убаин и каликсарен С-99 однонаправленно изменяли механокинетические параметры спонтанных и вызванных агонистами и деполяризацией плазматической мембраны сокращений миометрия крыс. Можно предположить, что эффект каликсарена С-99 на функционирование гладких мышц миометрия крыс аналогичен действию убаина и опосредуется ингибированием натриевой помпы плазматической мембраны.

Ключевые слова: гладкие мышцы, матка, сокращение, кинетические параметры, каликсарен С-99, Na^+ , K^+ -АТФ-аза плазматической мембраны.

Одержано: 03.01.2014