



УДК 577.353

ВПЛИВ КАЛІКСАРЕНУ С-99 НА СКОРОТЛИВУ АКТИВНІСТЬ М'ЯЗІВ ТОВСТОГО КИШЕЧНИКА ЩУРІВ

О. В. Цимбалюк

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64/13, Київ 01601, Україна
e-mail: otsymbal@bigmir.net*

Досліджено закономірності впливу нового високоафінного інгібітора натрієвої помпи плазматичної мембрани – каліксарену С-99 на скоротливу активність кільцевих гладеньких м'язів товстого кишечника. Встановлено, що в умовах попереднього повного блокування натрієвої помпи убаїном (100 мкМ) каліксарен С-99 (100 мкМ) спричиняє активацію спонтанних скорочень гладеньких м'язів. Також виявлено, що цей каліксарен в умовах попередньої дії убаїну змінює механокінетичні параметри скоротливих реакцій на деполяризацію плазматичної мембрани гладеньком'язових клітин гіперкалієвим розчином (80 мМ) і на аплікацію агоніста мускаринових холінорецепторів ацетилхоліну (10 мкМ). Виявлено, що каліксарен С-99 не змінює мобілізацію іонів Ca^{2+} зі саркоплазматичного ретикулуму. Таким чином, зроблено висновок, що вплив каліксарену С-99 на гладенькі м'язи кишечника не обмежується блокуванням натрієвої помпи плазматичної мембрани. У роботі обговорюються можливі механізми дії каліксарену С-99 на скоротливу активність гладеньких м'язів.

Ключові слова: гладенькі м'язи, каліксарен С-99, натрієва помпа, механокінетика, спонтанні та викликані скорочення.

ВСТУП

Захворювання шлунково-кишкового тракту (ШКТ), які супроводжуються порушенням його моторики (зокрема, хронічні запальні процеси, ожиріння, пухлини тощо), займають одне з перших місць серед патологій організму людини [15, 24]. Наприклад, у понад половини пацієнтів патології серцево-судинної системи (зокрема, есенціальна гіпертензія) поєднуються з порушенням функціонування гладеньких м'язів ШКТ (коморбідні захворювання) [5].

На молекулярно-клітинному рівні велика кількість патологій безпосередньо пов'язана з порушенням рівня експресії та функціональної активності окремих клітинних білків, таких як іонні канали, системи активного іонного транспорту, внутрішньоклітинні ензими. Зокрема, дослідженнями останніх років встановлено, що натрієва помпа плазматичної мембрани (ензим, який енергозалежно транспортує іони Na^+ і K^+) ізоформо-специфічно залучена у підтримання трансмембранного потенціалу, іонного гомеостазу, у передачу сигналів до клітини і регуляцію експресії

багатьох генів, які кодують важливі внутрішньоклітинні білки [29]. Порушення її функціонування є ключовою ланкою в розвитку таких поширених патологій, як артеріальна гіпертензія, цукровий діабет зі супутнім пригніченням моторики кишечника, ниркова та серцева недостатність, прееклампсія вагітних тощо [13, 29].

Серед дослідників-фармакологів, фізіологів і біохіміків надзвичайний інтерес викликає використання здобутків органічної хімії для розробки нових, ефективних і нетоксичних речовин – спрямованих модуляторів ключових протеїнів та мультипротеїнових комплексів клітини. Одним із найбільш фармакологічно-перспективних класів сполук є каліксарени – макроциклічні сполуки, які одержують циклоконденсацією пара-заміщених фенолів і формальдегіду. На сьогодні накопичено великий масив інформації щодо специфічної дії окремих каліксаренів як селективних рецепторів іонів і молекул, інгібіторів бактеріального росту, антимікозних і антитромботичних засобів тощо [23, 10].

Попередньо було з'ясовано, що каліксарени з шифрами С-99 і С-107 діють аналогічно до класичного інгібітора натрієвої помпи (Na^+, K^+ -АТФ-ази) убаїну, високоселективно пригнічуючи активність цього ензиму в суспензії препаратів плазматичних мембран гладеньком'язових клітин [17, 30, 32, 33]. Однак на рівні багатоклітинних фрагментів гладеньких м'язів кишечника нами було зареєстровано ефекти, які вирізнялися щодо впливу убаїну, тобто не могли бути пояснені лише інгібуванням натрієвої помпи. Так, у разі скорочувальних відповідей, індукованих аплікацією ацетилхоліну (головного збуджувального нейромедіатора гладеньких м'язів ШКТ), зазначені каліксарени (у концентрації 10 мкМ) значною мірою порівняно з убаїном зменшували співвідношення фазного і тонічного компонентів, що супроводжувалося вірогідним зниженням швидкості розслаблення препаратів [32, 33].

У зв'язку з цим дослідження спрямоване на встановлення закономірностей дії каліксарену С-99 в умовах блокування натрієвої помпи плазматичної мембрани убаїном, а також на вивчення його впливу на скоротливі реакції, обумовлені виходом іонів Ca^{2+} із внутрішньоклітинних Ca^{2+} -депо (інозитол-1,4,5-трифосфат- і ріанодинчутливі пули саркоплазматичного ретикулуму) кільцевих гладеньких м'язів сліпої кишки щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти проводили на щурах лінії Wistar (200–250 г). Усі маніпуляції з тваринами виконували згідно з Міжнародною конвенцією роботи з тваринами та Законом України „Про захист тварин від жорстокого поводження”. Протокол засідання Біоетичного комітету ННЦ "Інститут біології" КНУ імені Тараса Шевченка № 2 від 20 жовтня 2016 р. Умертвіння тварин здійснювали введенням летальної дози наркозу пропофолу (Sigma).

Тензометричні дослідження проводили на препаратах кільцевих гладеньких м'язів сліпої кишки (*caecum*). Вільні від слизової оболонки кільцеві смужки (середній розмір – 1,5×0 мм) вміщували в робочу камеру (об'єм 2 мл) з проточним розчином Кребса (швидкість протікання – 5 мл/хв), термостатовану при 37 °С. Препаратові надавали пасивний натяг на рівні 10 мН і залишали на 1 годину (до появи спонтанних скорочень постійної амплітуди й частоти і скорочень, а також скоротливих реакцій на ацетилхолін і гіперкалієвий розчин з постійними механокінетичними параметрами). Скоротливу активність досліджували в ізометричному режимі за допомогою датчика сили. Сигнали реєстрували, використовуючи аналого-цифровий перетворювач.

У досліджах використовували розчин Кребса (мМ): 20,4 NaCl; 5,9 KCl; 15,5 NaHCO₃; 1,2 NaH₂PO₄; 1,2 MgCl₂; 2,5 CaCl₂; 11,5 глюкоза; рН розчину становив 7,4. Гіперкалієвий розчин, який містив іони K⁺ у концентрації 80 мМ, готували методом ізотонічної заміни у вихідному розчині Кребса необхідної частини іонів Na⁺ на еквімолярну кількість іонів K⁺. Номінально безкальцієвий розчин готували аналогічно з розчину Кребса при заміні іонів Ca²⁺ еквімолярною кількістю іонів Mg²⁺ (рН 7,4). У разі використання ацетилхоліну початково готували його концентрований водний розчин (із розрахунку додавання 1% розчину речовини до кінцевого об'єму), аліквоту якого вносили в розчин Кребса до одержання концентрації 10 мкМ.

Уабаїн (Fluka, Швейцарія) використовували в концентрації 100 мкМ; попередньо готували маточний розчин у диметилсульфоксиді (ДМСО) з розрахунку введення 0,1% зазначеної речовини в кінцевий об'єм розчину Кребса. Каліксарен С-99 був синтезований під керівництвом і за участі чл.-кор. НАНУ В.І. Кальченка у відділі хімії фосфоранів Інституту органічної хімії НАН України. Каліксарен С-99 попередньо розчиняли в ДМСО і в концентрації 100 мкМ вносили в розчин Кребса (остаточно аліквота розчину органічного розчинника становила 0,1% від загального об'єму цього розчину). Контрольні скорочення досліджували в розчинах, які містили 0,1% ДМСО.

Скорочення індукували деполяризацією гіперкалієвим розчином (80 мМ), збуджувальним нейромедіатором ацетилхоліном (10 мкМ, Союзхимреактив, Росія), а також кофеїном (20 мМ, Sigma, США). У разі вивчення ефекту уабаїну аналізували пари скорочувальних реакцій – через 20 хв після початку аплікування уабаїну (100 мкМ) та через 1 год (за 20 хв до початку перед цією частиною експерименту концентрацію уабаїну збільшували вдвічі) після початку аплікування інгібітора.

Експерименти з використанням каліксарену С-99 були побудовані за такою схемою. Після 20 хв преінкубації з уабаїном (100 мкМ) реєстрували викликані (ацетилхоліном, кофеїном або гіперкалієвим розчином) скорочення. Далі на тлі дії уабаїну (100 мкМ) додавали каліксарен С-99 (100 мкМ) і преінкубували 20 хв, після чого (загальний час від початку експерименту становив 1 год) знову реєстрували викликані (ацетилхоліном, кофеїном або гіперкалієвим розчином) скорочення. Отже, мали можливість порівнювати хронологічні ефекти блокування натрієвої помпи класичним інгібітором уабаїном з аналогічними, але в умовах сумісної дії уабаїну та каліксарену С-99.

Вивчення механокінетики процесу скорочення-розслаблення м'язових препаратів (розрахунок нормованих максимальних швидкостей фаз скорочення та розслаблення V_{nc} і V_{nr} відповідно) здійснювали згідно з методом [6]. Фазою скорочення вважали фрагмент скоротливої відповіді від початку зміни сили до її максимального значення (амплітуди фазного скорочення). Фаза розслаблення починалася від максимуму фазного скорочення і тривала до виходу тонічного скорочення на стабільний рівень. Внесок тонічного скорочення у скоротливі відповіді гладеньком'язових препаратів розраховували як відсоток стаціонарного напруження відносно максимальної сили скорочувальних відповідей.

Експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики із використанням програми OriginPro 8. Перевірку вибірок на їхню приналежність до нормально розподілених генеральних сукупностей здійснювали за допомогою критерію Шапіро–Уїлка. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами вибірок використовували однофакторний дисперсійний аналіз і парний *t*-тест Стьюдента. В усіх випадках достовірними вважали результати за умови значення

ймовірності p , менше 5 % ($p < 0,05$). Аналіз достовірності апроксимації даних лінійною функцією здійснювали з використанням F -критерію Фішера; коефіцієнти детермінації (R^2) були не нижчими за 0,9. Результати представлені як середнє арифметичне \pm стандартна похибка середнього, n – кількість дослідів.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

1. Дослідження часових і концентраційних ефектів убаїну на динаміку скорочення-розслаблення гладеньких м'язів. У порівняльному аспекті було досліджено вплив інгібіторів натрієвої помпи плазматичної мембрани (класичного – убаїну, а також каліксарену С-99) на силові характеристики та кінетичні параметри скорочувальних відповідей гладеньких м'язів саесит щурів. Було обрано робочі концентрації цих речовин 100 та 200 мкМ. Відомо, що убаїн і каліксарен С-99 у концентрації 100 мкМ спричиняють інгібування Na^+ , K^+ -АТФ-ази плазматичної мембрани приблизно однаковою мірою (близько 90 %) [17, 35].

1.1. Спонтанна скоротлива активність і базальне напруження препаратів кільцевих гладеньких м'язів саесит за дії убаїну. Було встановлено, що додавання убаїну (100 мкМ) до омиваючого гладеньком'язові смужки розчину супроводжується підвищенням базального напруження препаратів, а також збільшенням амплітуди і частоти їхніх спонтанних скорочень (рис. 1, А). Так, на 10 хв дії убаїну амплітуда спонтанних скорочень у середньому досягала $132,5 \pm 5,3$ % ($p < 0,05$, $n = 5$) порівняно з контролем, тоді як частота становила $126,8 \pm 6,9$ % ($p < 0,05$, $n = 5$); такі результати цілком узгоджуються з даними літератури [13].

Подальше кумулятивне підвищення концентрації убаїну до 200 мкМ не спричиняло вірогідних змін спонтанної скорочувальної активності (амплітуда скорочень $94,6 \pm 4,7$ %, а частота – $106,5 \pm 7,4$ % (в обох випадках $p > 0,05$, $n = 5$) відносно параметрів скорочень за наявності 100 мкМ убаїну) (рис.1, Г).

Ритмічні спонтанні скорочення гладеньком'язової стінки органів травного тракту савців забезпечуються специфічними пейсмекерами – інтерстиціальними клітинами Кахаля (ІКК). Для цих тканин відомо чотири типи ІКК, які відрізняються між собою специфічним розташуванням і амплітудно-часовими характеристиками активності. У товстому кишечнику щурів переважають пейсмекерні клітини двох типів – ІКК-SM (розташовані уздовж підслизової поверхні кільцевих м'язів у Мейснеровому сплетенні) та ІКК-MY (містяться між кільцевим і поздовжнім м'язовими шарами в Ауербаховому сплетенні). Відомо [4, 20], що кожний тип пейсмекерів незалежно генерує власний патерн ритмоактивності: ІКК-MY обумовлює низькоамплітудні скорочення з високою частотою (10–15 скорочень за хвилину), а ІКК-SM – високоамплітудні з низькою частотою (0,5–1,5 скорочень за хвилину). Варто відзначити, що своїми властивостями товстий кишечник щурів, порівняно з іншими тваринними моделями, подібний до кишечника людини, тому дані отримані на тканині щурів можуть бути використані для інтерпретації результатів з вивчення моторики товстого кишечника людини.

Високі концентрації серцевого глікозиду убаїну (10^{-5} – 10^{-3} М) спричиняють деполаризацію плазматичної мембрани клітин, підвищення базального напруження гладеньких м'язів і активацію їхньої спонтанної скоротливої активності [2, 7]. Як відомо, убаїн, зв'язуючись з α -субодиницею натрієвої помпи, спричиняє її блокування, що призводить до підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів Na^+ , а це, у свою чергу, обумовлює роботу $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінника (ці дві трансмембранні структури

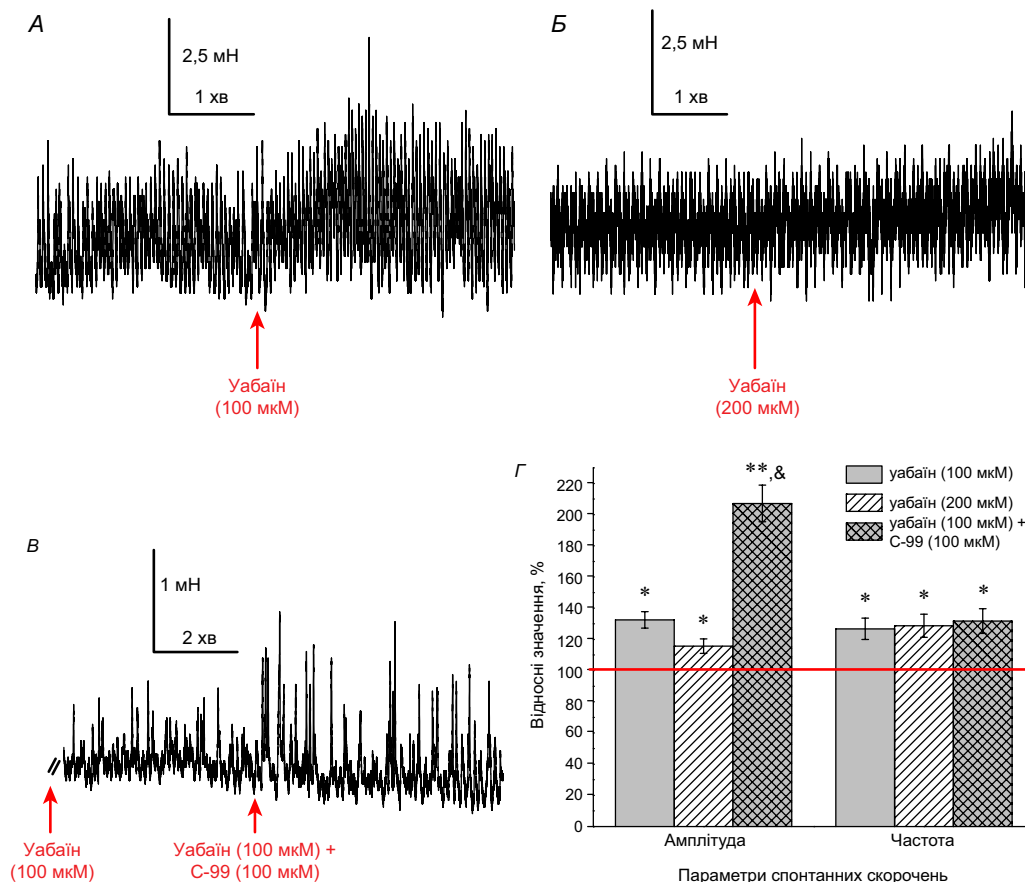


Рис. 1. Модуляція спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів *saecum* уабаїном та каліксареном C-99: А – 100 мкМ уабаїну; Б – 200 мкМ уабаїну на фоні попередньої 30-хвилинної інкубації з 100 мкМ уабаїну; В – 100 мкМ каліксарену C-99 на фоні попередньої 30-хвилинної інкубації з 100 мкМ уабаїну (наведено типові механограми); Г – статистичні дані зміни амплітуди і частоти спонтанних скорочень за наявності уабаїну і каліксарену C-99, параметри виражені у % щодо контролю, прийнятого за 100% (усереднення з 5 повторів). * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ – зміни вірогідні щодо контролю; & – $p < 0,01$ – зміни вірогідні щодо дії 200 мкМ уабаїну

Fig. 1. Modulation of spontaneous contractile activity of the circular smooth muscle *caecum* induced by ouabain and calixarene C-99: A – 100 μM ouabain; B – 200 μM ouabain against the background of the previous 30-minute incubation with 100 μM ouabain; V – 100 μM calixarene C-99 on the background of the previous 30-minute incubation with 100 μM ouabain (the typical recordings); G – statistics changes the amplitude and frequency of spontaneous contractions in the presence ouabain and calixarene C-99, the parameters expressed in % compared to controls taken as 100% (averaging 5 repetitions). * – $P < 0.05$; ** – $p < 0.01$ – vs. respective value in the control; & – $P < 0.01$ – vs. respective value in the presence of 200 μM ouabain

і колокалізовані, і функціонально спряжені) в реверсному режимі [29]. Тому збуджувальну дію уабаїну переважно пов'язують з підвищенням концентрації іонів Ca^{2+} в міоплазмі. Поряд із тим, дані С. Varajas-Lopes з колегами [3] вказують на те, що головним чинником зазначених збуджувальних ефектів уабаїну є блокування K^{+} -каналів плазматичної мембрани гладеньком'язових клітин іонами Na^{+} , внутрішньо-

клітинна концентрація яких підвищується при інгібуванні роботи натрієвої помпи. На кільцевих гладеньких м'язах трахеї мурчаків встановлено, що дія уабаїну крім активації реверсної роботи $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінника, залежить від активності Ca^{2+} -помпи саркоплазматичного ретикулу, супроводжується активацією потенціалкерованих каналів L-типу та посиленням вивільнення ацетилхоліну з нервових закінчень [11]. Отже, можна передбачити, що отримане нами посилення спонтанних скорочень в умовах дії уабаїну пов'язане зі зростанням внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca^{2+} в клітинах *saecum*, а також додатковим вивільненням ацетилхоліну з нервових терміналей інтрамурального нервового сплетення гладеньком'язових смужок.

1.2. Модуляція викликаних K^+ -скорочень гладеньких м'язів *saecum* у разі блокування натрієвої помпи плазматичної мембрани уабаїном. У наступній серії експериментів досліджували закономірності зміни механокінетичних параметрів скорочень, індукованих деполяризацією плазматичної мембрани гладеньком'язових клітин гіперкалієвим розчином. Відомо, що за цих умов скорочення переважно реалізується за рахунок іонів кальцію, які надходять до міоплазми з позаклітинного середовища через потенціалкеровані Ca^{2+} -канали (у гладеньких м'язах кишечника це переважно канали L-типу).

В умовах 20-хвилинної преінкубації з уабаїном (100 мкМ) відбувалися зміни скоротливих відповідей *saecum* на аплікацію гіперкалієвого розчину (рис. 2, А). Зокрема, зниження сили фазного скорочення становило $86,6 \pm 5,2\%$ ($p < 0,05$, $n = 10$) порівняно з контролем, прийнятим за 100%; мали місце тенденції до зростання тонічної складової скорочень (до $115,6 \pm 8,3\%$, $p > 0,05$, $n = 10$). Встановлені зміни сили гіперкалієвих скорочень не відобразилися на кінетиці розвитку скоротливих відповідей: нормовані максимальні швидкості як фази скорочення (V_{nc}), так і фази розслаблення (V_{nr}) залишалися на рівні контрольних показників.

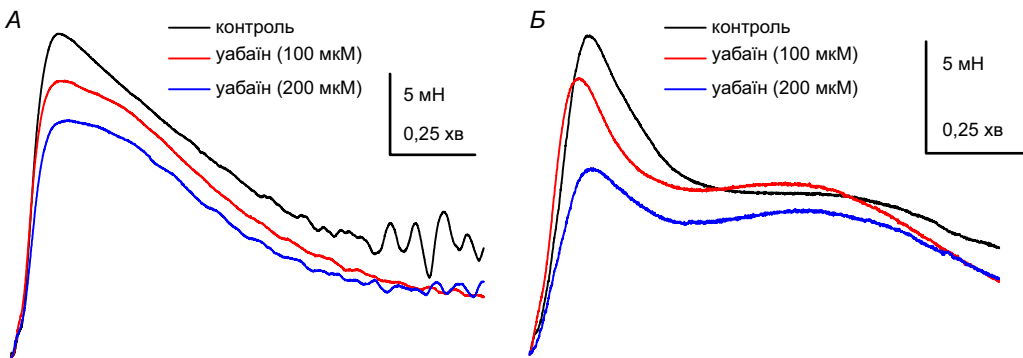


Рис. 2. Викликані скорочення кільцевих гладеньких м'язів *saecum* у контролі та за умови кумулятивної дії інгібітора натрієвої помпи плазматичної мембрани уабаїну (100 і 200 мкМ): А – скорочення індукували аплікацією ацетилхоліну (10 мкМ); Б – скорочення індукували гіперкалієвим розчином (80 мМ). Наведено типові механограми

Fig. 2. The circular smooth muscle *saecum* contractions in control and under the cumulative action of the plasma membrane sodium pump inhibitor ouabain (100 and 200 μM) (the typical recordings): А – the acetylcholine-induced (10 μM) contractions; Б – K^+ -induced (80 mM) contractions

За умови збільшення концентрації уабаїну в омиваючому гладеньком'язові смужки розчині до 200 мкМ спостерігали подальше пригнічення K^+ -викликаних скорочень (рис. 2, Б). Фазний компонент скоротливої відповіді знижувався у середньому

до $67,8 \pm 3,9$ % ($p < 0,05$, $n = 5$), причому вірогідні відмінності виявлено не лише порівняно з групою контролю, але й за дії убаїну в концентрації 100 мкМ. Тонічне скорочення гіперкалієвої контрактури за наявності 200 мкМ убаїну зростало до $154,9 \pm 11,1$ % ($p < 0,05$, $n = 5$). Також зміни фазного компонента K^+ -викликаних скорочень супроводжувалися зниженням нормованої максимальної швидкості фази скорочення (V_{nc}) до $70,2 \pm 9,7$ % ($p < 0,05$, $n = 5$). Кінетичні параметри фази розслаблення залишалися без змін ($104,7 \times 8,1$ %, $n = 5$, $p > 0,05$).

Одержані ефекти узгоджуються з нашими попередніми результатами, а також даними досліджень інших авторів [27, 32, 33]. Так, за даними К. Shimizu і колег порушення трансмембранного іонного гомеостазу за дії убаїну на гладенькі м'язи супроводжується пригніченням K^+ -викликаних скорочень, однак інформація щодо переважання його інгібіторного впливу на фазну або тонічну складову різноспрямована [16, 27]. Дані С. Barajas-Lopez та J. Huizinga доводять, що пригнічення убаїном гіперкалієвих скорочень, які повністю залежать від концентрації іонів Na^+ , цілком усувається вилученням цих катіонів з омиваючого гладенькі м'язи розчину [3].

1.3. Вивчення ефектів дії убаїну на динаміку викликаних ацетилхоліном скорочувальних відповідей гладеньких м'язів *saesum*. Попереднє блокування натрієвої помпи убаїном (100 мкМ протягом 20 хв) спричиняло зниження фазного компонента ацетилхолінових скорочень до $84,1 \pm 7,8$ % ($n = 10$, $p < 0,05$). За цих умов тонічний компонент скорочень залишався без змін ($98,9 \pm 7,3$ %, $n = 10$, $p > 0,05$).

Варто відзначити, що, на відміну від скорочувальних відповідей, індукованих гіперкалієвим розчином, фазні компоненти ацетилхолінових скорочень (агоніст використовували через 20 хв і через 1 год від початку дії убаїну) не зазнавали змін при подальшому кумулятивному збільшенні концентрації убаїну до 200 мкМ (рис. 2, А). За цих умов відносний внесок тонічного компонента в скоротливу відповідь залишався без змін ($116,8 \pm 9,2$; $n = 5$, $p > 0,05$). Убаїн не змінював також кінетику ацетилхолінових скорочувальних відповідей гладеньких м'язів *saesum*: нормовані максимальні швидкості як фази скорочення, так і фази розслаблення залишалися на контрольному рівні.

У гладеньких м'язах товстого кишечника щурів експресуються ацетилхолінові рецептори М2- і М3-підтипів [12]. Фазний компонент ацетилхолінових скорочень гладеньких м'язів кишечника обумовлюється активацією М3-холінорецепторів (спряженими з G_q -білками), які запускають ланцюг подій: активація фосфоліпази С β – синтез інозитол-1,4,5-трифосфату (ІТФ); у цьому випадку переважним джерелом Ca^{2+} є ІТФ-чутливе депо саркоплазматичного ретикулу. Тонічний компонент ацетилхолінового скорочення розвивається внаслідок стимулювання агоністами М2-холінорецепторів, спряжених з $G_{i/o}$ -білками, що призводить до ланцюга подій: активація катіонної провідності плазматичної мембрани (вхід іонів Na^+ і Ca^{2+} через неселективні катіонні канали) – деполяризація – активація потенціалкероаних Ca^{2+} -каналів L-типу і вхід іонів Ca^{2+} , а також вивільнення кальцію з ріанодин-чутливого (RyR) депо саркоплазматичного ретикулу [19].

Відомо, що убаїн пригнічує ацетилхолінові скорочення вісцеральних гладеньких м'язів, причому спостерігається переважне інгібування фазного компонента скоротливих відповідей [1, 34]. Дослідженнями S. Usune і колег встановлено, що така дія убаїну залежить від внутрішньоклітинної концентрації іонів Na^+ і усувається за наявності блокатора Na^+ -каналів амilorіду [34]. На рівні індукованого карбахоліном (агоністом ацетилхолінових рецепторів, який не розщеплюється аце-

тилхолінестеразою) зростання внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca^{2+} , убаїн також суттєво пригнічує фазну складову Ca^{2+} -сигналу [21]. У праці N. Tajima і колег доведено, що за наявності убаїну відбувається суттєве пригнічення струму через Ca^{2+} -активовані K^+ -канали великої провідності (BK_{Ca} -канали) [28]. Оскільки в клітинах гладеньких м'язів активація BK_{Ca} -каналів відбувається у разі RyR -вивільнення іонів Ca^{2+} і супроводжується зниженням напруження м'язів за умови тонічного скорочення, отримане нами відносно збільшення тонічного компонента ацетилхолінових скорочень за попереднього блокування натрієвої помпи убаїном може бути пов'язане з пригніченням витоку іонів K^+ через BK_{Ca} -канали.

2. Дослідження ефектів каліксарену С-99 за попередньої інкубації гладеньком'язових препаратів і наявності убаїну. Нашими попередніми дослідженнями [31, 32] було встановлено, що убаїн і каліксарен С-99 (обидві речовини у концентрації 10 мкМ) спричиняють односпрямовану зміну скоротливих відповідей кільцевих м'язів *saesum* (скорочення викликали аплікуванням гіперкалієвого розчину й ацетилхоліну). Поряд із цим, було виявлено, що каліксарен С-99, на відміну від убаїну, викликає суттєве (у середньому вдвічі) зниження нормованої максимальної швидкості фази розслаблення ацетилхолінових скорочень. Цей специфічний ефект каліксаренів на скороченнях, викликаних деполяризацією гіперкалієвим розчином, був виражений значно слабше. Тому в наступній серії експериментів було досліджено ефекти каліксарену С-99 за умови попередньої інкубації гладеньком'язових препаратів за наявності убаїну.

2.1 Особливості спонтанної скоротливої активності за наявності каліксарену С-99 і попередньої інкубації гладеньком'язових препаратів з убаїном. Як видно з рис. 1, В, додавання каліксарену С-99 (100 мкМ) в омиваючий гладеньком'язові смужки розчин Кребса з 100 мкМ убаїну не призводило до зміни їх базального напруження. Поряд із тим, на відміну від аналогічних експериментів з убаїном (рис. 1, Б), каліксарен С-99 спричиняв суттєве збільшення амплітуди і частоти спонтанних скорочень (відповідно, до $207,2 \pm 11,7$ та $131,8 \pm 7,9$ %, $n = 5$, $p < 0,01$) (рис. 1, В). Отримані нами дані доводять, що в стаціонарних умовах блокування натрієвої помпи убаїном каліксарен С-99 може додатково активувати спонтанну скоротливу активність гладеньких м'язів товстого кишечника щурів.

Активаційний ефект каліксарену С-99 на спонтанні скорочення інтестинальних гладеньких м'язів може бути пояснений дією на пейсмейкерні клітини. Як встановлено дослідженнями останніх років, в основі генерації спонтанної деполяризації пейсмейкерних ІКК лежать процеси перерозподілу іонів Ca^{2+} між внутрішньоклітинними депо (так звані кальцієві мікродомени): Ca^{2+} , вивільняючись із саркоплазматичного ретикулуму (СР), захоплюється мітохондріями, і саме це зниження концентрації Ca^{2+} призводить до активації пейсмейкерних катіонних струмів у плазматичній мембрані ІКК [22, 36]. Робота Ca^{2+} -уніпортера мітохондрій є потенціал-залежною: у разі деполяризації внутрішньої мембрани мітохондрій депонування відбувається з меншою ефективністю і супроводжується пригніченням спонтанної активності гладеньких м'язів, і навпаки, під час її фармакологічної гіперполяризації спонтанна активність ІКК посилюється [8]. Поряд із тим, на ізольованих міоцитах матки щурів було з'ясовано, що окремі каліксарени, зокрема і С-99, на тлі дії убаїну спричиняють суттєву поляризацію внутрішньої мітохондріальної мембрани [9]. Отже, є усі підстави припустити, що саме вплив на потенціал внутрішньої мембрани мітохондрій лежить в основі зазначеної активаторної дії каліксарену С-99 на

спонтанну скоротливу активність гладеньких м'язів *saesum* в умовах попереднього блокування натрієвої помпи убаїном.

2.2 Дослідження впливу каліксарену С-99 на викликані K^+ -скорочення гладеньких м'язів *saesum* за попередньої інкубації убаїном. Дія 100 мкМ каліксарену С-99 за умови попередньої інкубації гладеньких м'язів *saesum* з 100 мкМ убаїну супроводжувалася суттєвими змінами K^+ -викликаних скорочень як порівняно з контролем, так і відносно відповідних ефектів убаїну. Так, порівняно з контролем їхній фазний компонент знижувався до $58,4 \pm 6,8$ % ($n = 5$, $p < 0,05$), а відносний внесок тонічного скорочення, навпаки, зростав до $207,1 \pm 12,5$ % ($n = 5$, $p < 0,01$).

Кінетичним аналізом було встановлено, що в умовах комбінованої дії 100 мкМ убаїну і 100 мкМ каліксарену С-99 обидві нормовані максимальні швидкості (V_{nc} та V_{nr}) знижувалися приблизно однаковою мірою: відповідно до $46,9 \pm 14,3$ % і $56,8 \pm 13,1$ %, $n = 5$, $p < 0,05$ порівняно зі швидкостями в контролі. Таким чином, використання підвищеної концентрації каліксарену С-99 на тлі убаїну виявило зниження швидкості наростання й амплітуди фазного скорочення, однак, разом з тим – потужне зростання відносного внеску тонічного компонента в гіперкалієве скорочення та спряжене з ним уповільнення нормованої максимальної швидкості фази розслаблення. Індуковане каліксареном пригнічення сили фазного скорочення і нормованої максимальної швидкості V_{nc} під час K^+ -деполяризації плазматичної мембрани статистично не відрізнялося від ефекту використання 200 мкМ убаїну (рис. 4, А). Однак зміни тонічної складової і параметра V_{nr} не можна пояснити лише ланцюгом подій, який запускається у разі блокування натрієвої помпи плазматичної мембрани.

Відомо, що тонічний компонент K^+ -скорочень товстого кишечника не лише обумовлюється входом іонів Ca^{2+} крізь потенціалкеровані канали плазматичної мембрани, але й суттєво визначається внеском внутрішньоклітинних кальцієвих депо. Зокрема, на препаратах гладеньких м'язів *taenia coli* з'ясовано [14], що аплікування рутенієвого червоного супроводжується потужним зниженням саме тонічної складової гіперкалієвої контрактури, тоді як фазне скорочення у цьому разі інгібується значно меншою мірою. Відомо, що рутенієвий червоний неспецифічно пригнічує функцію Ca^{2+} -транспортувальних систем: блокує TRPA1-канали плазматичної мембрани (в нашому випадку не є актуальним, оскільки ці канали активуються при температурах нижче 17 °С), блокує роботу Ca^{2+} -уніпортера мітохондрій і RyR-каналів СР [18]. Вплив рутенієвого червоного на механокінетику гіперкалієвих скорочень опосередковується його деполяризацією внутрішньої мембрани мітохондрій, тому ймовірно, що підвищення різниці потенціалів на внутрішній мембрані цих органел має спричинити збільшення тонічної складової скоротливих відповідей.

Отже, можна припустити, що зазначені особливості впливу каліксарену С-99 на параметри K^+ -скорочень, як і у разі спонтанної скорочувальної активності, зумовлені його гіперполяризуючою дією на внутрішню мембрану мітохондрій. З іншого боку, не можна було виключити вплив каліксарену С-99 на вивільнення іонів Ca^{2+} з ріанодин-чутливого пулу СР, тому було проведено перевірку цієї гіпотези.

2.3 Дослідження впливу каліксарену С-99 на викликані ацетилхоліном скорочення гладеньких м'язів *saesum* за попередньої інкубації з убаїном і тестування дії С-99 на Ca^{2+} -пули саркоплазматичного ретикулу. Агоніст-викликані скорочення виявилися чутливими до дії каліксарену С-99 в умовах попереднього блокування Na^+ , K^+ -АТФ-ази убаїном (рис. 3, А). Так, амплітуда фазного

скорочення знижувалась у середньому до $48,3 \pm 10,4$ % ($n = 5$, $p < 0,05$) порівняно з контролем, а відносний внесок тонічної складової в ацетилхолінове скорочення за наявності обох речовин зростав до $206,9 \pm 20,2$ % ($n = 5$, $p < 0,01$). Розрахунок нормованих максимальних швидкостей фаз скорочення та розслаблення показав, що V_{nc} мала тенденції до зниження щодо контролю ($76,1 \pm 14,4$ % , $n = 5$, $p > 0,05$) та не змінилася порівняно з показником в умовах дії лише убаїну, тоді як V_{nr} зменшилася до $66,4 \pm 10,1$ % ($n = 5$, $p < 0,05$). Порівняно з дією 100 мкМ убаїну, після додавання 100 мкМ С-99 вірогідно знизилась амплітуда фазного ацетилхолінового скорочення, а також збільшились тонічне скорочення та нормована максимальна швидкість фази розслаблення (рис. 4, Б).

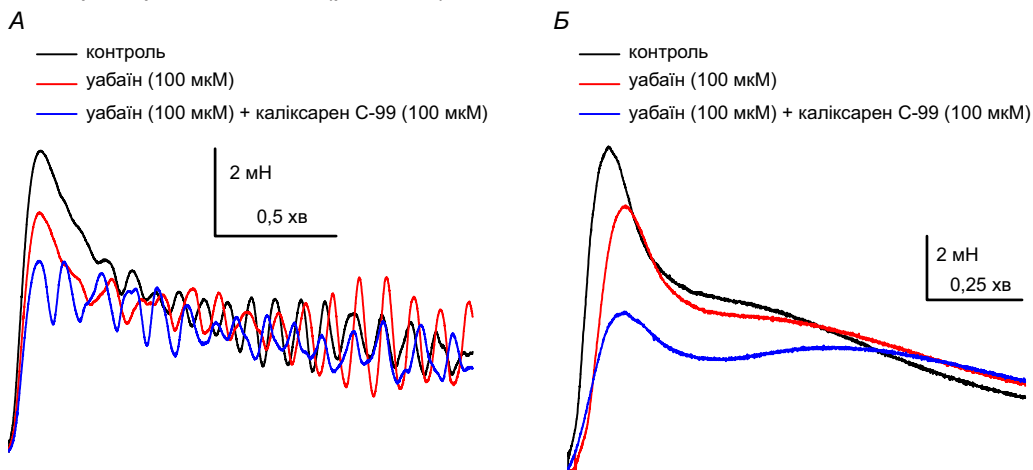


Рис. 3. Викликані скорочення кільцевих гладеньких м'язів *caecum* у контролі та за умови преінкубації з інгібітором натрієвої помпи плазматичної мембрани убаїном (100 мкМ) та у разі сукупної дії убаїну (100 мкМ) і каліксарену С-99 (100 мкМ): А – скорочення індукували аплікацією ацетилхоліну (10 мкМ); Б – скорочення індукували гіперкалієвим розчином (80 мМ). Наведено типові механограми

Fig. 3. The circular smooth muscle *caecum* contractions in control and under the preincubation with sodium pump inhibitor plasma membrane ouabain (100 μM) and at combined action of ouabain (100 μM) and calixarene C-99 (100 μM) (the typical recordings): А – acetylcholine-induced (10 μM) contractions; Б – K⁺-induced (80 mM) contractions

Як уже зазначалося, фазний компонент ацетилхолінового скорочення переважно визначається ефективністю вивільнення іонів з ІТФ-чутливого пулу СР, а у його тонічний компонент робить внесок викид іонів Ca^{2+} з ріанодин-чутливої частини цього депо [26]. Тому ми перевіряли вплив убаїну та каліксарену С-99 (обидві речовини в концентрації 100 мкМ) на скорочувальні відповіді, обумовлені виходом кальцію із цих пулів. Для тестування ІТФ-залежного викиду кальцію з СР здійснювали реєстрацію ацетилхолінового скорочення в номінально безкальцієвому розчині. Було встановлено, що преінкубація з С-99 протягом 30 хв спричиняла вірогідне пригнічення цих скорочень до $67,3 \pm 9,4$ % ($n = 5$, $p < 0,05$). В аналогічних умовах убаїн викликав зниження амплітуди скорочень до $63,7 \pm 11,7$ % ($n = 5$, $p < 0,05$). Між групами різниця була статистично незначущою, отже, зниження вивільнення Ca^{2+} з ІТФ-чутливого пулу в умовах дії каліксарену С-99 не може бути причиною описаних вище відмінностей між ацетилхоліновими скороченнями за преінкубації з 200 мкМ убаїну та 100 мкМ убаїну і 100 мкМ каліксарену С-99.

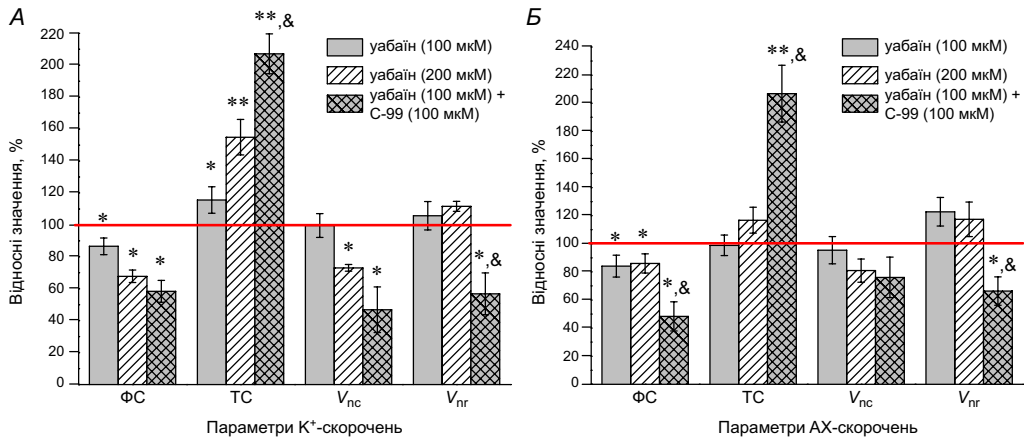


Рис. 4. Зміни механокінетичних параметрів скоротливих відповідей (А – індукованих гіперкалієвим розчином; Б – індукованих ацетилхоліном) кільцевих гладеньких м'язів *caecum* за умов преінкубації з інгібітором натрієвої помпи плазматичної мембрани убаїном (100 мкМ – сірі стовпці, 200 мкМ – білі стовпці зі штрихуванням) і за сукупної дії убаїну (100 мкМ) і каліксарену С-99 (100 мкМ) (сірі стовпці зі штрихуванням): ФС – фазний компонент скорочення; ТС – відносний внесок тонічного компонента у скоротливу відповідь; V_{nc} – нормована максимальна швидкість фази скорочення; V_{nr} – нормована максимальна швидкість фази розслаблення. Усі параметри виражені у % щодо контролю, прийнятого за 100 %. Дані усереднені щонайменше з 5 повторів.

* – p<0,05; ** – p<0,01 – зміни вірогідні щодо контролю; & – p<0,05 – зміни вірогідні щодо дії 200 мкМ убаїну

Fig. 4. Changes in the mechanokinetic parameters of circular smooth muscle *caecum* contractile responses (A – the acetylcholine-induced (10 μM) contractions; B – K⁺-induced (80 mM) contractions) under preincubation with sodium pump inhibitor plasma membrane ouabain (100 μM – gray column, 200 μM – white columns with shading) and in cumulative action of ouabain (100 μM) and calixarene C-99 (100 μM) (gray column from hatching): ФС – phasic component of contractile response; ТС – relative contribution of tonic component to the contractile response; V_{nc} – normalized maximum speed of phase contraction; V_{nr} – normalized maximum speed of phase relaxation. All parameters are expressed as % relative to control taken as 100 %. These averaged at least 5 repetitions.

* – P < 0.05; ** – p < 0.01 – vs. respective value in the control; & – P < 0.05 – vs. respective value in the presence of 200 μM ouabain

Також було встановлено, що каліксарен С-99 (10 мкМ) не змінював кофеїн-індуковані (20 мМ) скорочення гладеньком'язових препаратів *caecum* (їхня амплітуда становила 100,4±3,9 %; n = 5, p>0,05). Отож, каліксарен С-99 не впливає на мобілізацію іонів Ca²⁺ з ріанодин-чутливого пулу СР, тому в такий спосіб не міг спричиняти зміну ні К⁺-індукованих, ні ацетилхолінових скорочень.

ВИСНОВКИ

Таким чином, одержані дані свідчать, що дія каліксарену С-99 не ідентична дії убаїну. В умовах попереднього блокування натрієвої помпи убаїном каліксарен С-99 спричиняє активацію спонтанних скорочень гладеньких м'язів. Він змінює і скоротливі реакції на деполяризацію плазматичної мембрани гладеньком'язових клітин гіперкалієвим розчином і на аплікацію агоніста мускаринових холінорецепторів ацетилхоліну. Зазначені відмінності свідчать, що вплив каліксарену С-99 на гладенькі м'язи кишечника не обмежується блокуванням натрієвої помпи плазматичної мембрани. За сукупністю результатів власних досліджень і даних літератури можна передбачити, що зазначені ефекти обумовлюються мітохондріальною ланкою модуляції внутрішньоклітинного гомеостазу іонів Ca²⁺.

ПОДЯКА

Автор висловлює щиро вдячність заступникові директора Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, завідувачу відділу біохімії м'язів, академіку НАН України С.О. Костеріну за плідну співпрацю у галузі вивчення біофізикохімічних механізмів дії каліксаренів на трансмембранний обмін катіонів у гладеньких м'язох і, зокрема, за участь в аналізі й обговоренні одержаних результатів щодо дії каліксарену С-99. Також автор щиро вдячна директорові Інституту органічної хімії НАН України, завідувачу відділу хімії фосфоранів, членові-кореспонденту НАН України, професору В.І. Кальченку за люб'язно наданий для досліджень каліксарен С-99.

1. *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(1): 38–46.
2. *Barajas-Lopez C., Chow E., Hertog A.D., Huizing J.D.* Role of the sodium pump in pace-maker generation in dog colonic smooth muscle. **J. Physiol**, 1989; 416: 369–383.
3. *Barajas-Lopez C., Huizinga J.D.* Ouabain-induced excitation of colonic smooth muscle due to block of K^+ conductance by intracellular Na^+ ions. **Eur. J. Pharm**, 1992; 221: 51–58.
4. *Blair P.J., Rhee P.-L., Sanders K.M., Ward S.M.* The Significance of Interstitial Cells in Neurogastroenterology. **J. Neurogastroenterol. Motil**, 2014; 20, 3: 294–317.
5. *Bukach O.P., Antoniuk M.V., Sydorchuk L.P.* et al. Comorbid diseases in patients with arterial hypertension in outpatient practice. **Bukovinian Medical Herald Journal**, 2013; 17, 4(68): 26–30. (In Ukrainian).
6. *Burdyga Th.V., Kosterin S.A.* Kinetic analysis of smooth muscle relaxation. **Gen. Physiol. Biophys**, 1991; 10: 589–598.
7. *Connor J. A., Prosser C. L., Weems W. A.* A study of pace-maker activity in intestinal smooth muscle. **J. Physiol**, 1974; 240: 671–701.
8. *Correa R.M., Lafayette S.S.L., Pereira G.J.S.* et al. Mitochondrial involvement in carbachol-induced intracellular Ca^{2+} mobilization and contraction in rat gastric smooth muscle. **Life Sci**, 2011; 89(21–22): 757–764.
9. *Danylovyh G.V., Danylovyh Yu.V., Kolomiets O.V.* et al. Changes in polarization of myometrial cells plasma and internal mitochondrial membranes under calixarenes action as inhibitors of plasma membrane Na^+ , K^+ -ATPase. **Ukr. Biochem. J**, 2012; 84(6): 37–48. (In Ukrainian).
10. *de Fátima A., Fernandes S.A., Sabino A.A.* Calixarenes as new platforms for drug design. **Curr. Drug Discov. Technol**, 2009; 6(2): 151–170.
11. *Espinosa-Tanguma R., Valle-Aguilera J.R., Zarazúa-García O.* et al. Mechanism of ouabain-induced contractions in guinea-pig tracheal rings. **Clin. Exp. Pharm. Physiol**, 2004; 31: 710–715.
12. *Joo M.C., Kim Y.S., Choi E.S.* et al. Changes in the muscarinic receptors on the colonic smooth muscles of rats with spinal cord injury. **Ann. Rehabil. Med**, 2011; 35: 589–598.
13. *Hauck C., Frishman W.H.* Systemic hypertension: the roles of salt, vascular Na^+/K^+ ATPase and the endogenous glycosides, ouabain and marinobufagenin. **Cardiol. Rev**, 2012; 20(3): 130–138.
14. *Kawamura M., Yabu H.* Selective inhibition of potassium contracture in guinea pig taenia coli by ruthenium red. **Jap. J. Physiol**, 1978; 28: 447–460.
15. *Kim H.R., Appel S., Vetterkind S.* et al. Smooth muscle signalling pathways in health and disease. **J. Cell. Mol. Med**, 2008; 12(6A): 2165–2180.
16. *Kishimoto T., Urakawa N.* Effects of ouabain on high-K induced contractions of various smooth muscle tissues in the guinea-pig. **Japan. J. Pharmacol**, 1982; 32: 551–561.
17. *Labyntseva R.D., Slinchenko N.M., Veklich T.O.* et al. Comparative investigation of calixarenes influence on Mg^{2+} -dependent ATP-hydrolase enzymatic systems from smooth muscle cells of the uterus. **Ukr. Biochem. J**, 2007; 79(3): 44–54. (In Ukrainian).

18. Oguri G., Nakajima T., Yamamoto Y. et al. Effects of methylglyoxal on human cardiac fibroblast: roles of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) channels. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.**, 2014; 307(9): H1339–H1352.
19. Olson M.L., Sandison M.E., McCarron J.G. Microdomains of muscarinic acetylcholine and $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ receptors create ' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ junctions' and sites of Ca^{2+} wave initiation in smooth muscle. **J. Cell. Sci.**, 2012; 125 (Pt 22): 5315–5328.
20. Pluja L., Alberti E., Fernandez E. et al. Evidence supporting presence of two pacemakers in rat colon. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.**, 2001; 281: G255–G266.
21. Pritchard K., Ashley C.C. $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange in isolated smooth muscle cells demonstrated by the fluorescent calcium indicator fura-2. **FEBS Letters**, 1986; 195(1–2): 23–27.
22. Rizzuto R., Pozzan T. Microdomains of intracellular Ca^{2+} : molecular determinants and functional consequences. **Physiol. Rev.**, 2006; 86: 369–408.
23. Rodik R.V., Boyko V.I., Kalchenko V.I. Calixarenes in bio-medical researches. **Curr. Med. Chem.**, 2009; 16(13): 1630–1655.
24. Rychter J., Espin F., Gallego D. et al. Colonic smooth muscle cells and colonic motility patterns as a target for irritable bowel syndrome therapy: mechanisms of action of otilonium bromide. **Therap. Adv. Gastroenterol.**, 2014; 7(4): 156–166.
25. Saini H.K., Dhalla N.S. Sarcolemmal cation channels and exchangers modify the increase in intracellular calcium in cardiomyocytes on inhibiting Na^+/K^+ -ATPase. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.**, 2007; 293: H169–H181.
26. Shi X.-Z., Sarna S.K. Impairment of Ca^{2+} mobilization in circular muscle cells of the inflamed colon. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, 2000; 278(2): G234–G242.
27. Shimizu K., Nakajyo S., Urakawa N. Species differences in the inhibitory effect of ouabain on high K-induced contraction in the ileal longitudinal muscle. **Japan. J. Pharmacol.**, 1985; 39: 67–75.
28. Tajima N., Itokazu Y., Korpi E.R. et al. Activity of BKCa channel is modulated by membrane cholesterol content and association with Na^+/K^+ -ATPase in human melanoma IGR39 cells. **J. Biol. Chem.**, 2011; 286(7): 5624–5638.
29. Tsymbalyuk O. V., Kosterin S. O. Na^+ , K^+ -ATPase, endogenous cardiotonic steroids and their transducing role. **Ukr. Biochem. J.**, 2012; 84(1): 5–17. (In Ukrainian).
30. Tsymbalyuk O.V., Kosterin S.O., Rodik R.V., Kalchenko V. I. Comparative study in the *in vitro* and *in vivo* experiments of influence of ouabain and calixarene C107 on Na^+/K^+ -ATPase activity of rat hepatocyte plasmatic membranes, **Ukr. Biochem. J.**, 2010; 82(4): 78–85. (In Ukrainian).
31. Tsymbalyuk O.V., Onufrychuk O.V., Miroshnichenko N.S., Cherenok S.A., Kalchenko V.I., Kosterin S.O. Calixarene bis-hydroxymethylphosphone acid changes the acetylcholine-evoked contractions of circular smooth muscles caecum rats. **Reports NAS of Ukraine**, 2007; 9: 167–173. (In Ukrainian).
32. Tsymbalyuk O.V., Onufrychuk O.V., Veklich T.O. et al. Comparative study of influence of ouabain and calixarene bis-hydroxymethylphosphone acid on Na^+/K^+ -ATPase activity and mechanokinetics of process "contraction-relaxation" of smooth muscle. **Physics of the Alive**, 2006; 14(1): 53–72. (In Ukrainian).
33. Tsymbalyuk O.V., Rodik R.V., Kalchenko V.I., Kosterin S.O. The mekhanokinetical parameters of contractile activity of rat caecum smooth muscles under the conditions of calixarene C107 chronic action *in vivo*. **Physics of the Alive**, 2010; 18(1): 47–51. (In Ukrainian).
34. Usune S., Katsuragi T., Furukawa T. Inhibition by ouabain and veratridine of acetylcholine-evoked phasic contraction in the guinea-pig taenia coli. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, 1991; 343: 574–579.
35. Veklich T.O., Shkrabak A.A., Cherenok S.O. et al. Comparative investigation of the effect of calix[4]arene C-99 and its analogs on Na^+/K^+ -ATPase activity of uterus myocyte plasma membrane. **Ukr. Biochem. J.**, 2012; 84(6): 49–57. (In Ukrainian).
36. Ward S.M., Ordog T., Koh S.D. et al. Pacemaking in interstitial cells of Cajal depends upon calcium handling by endoplasmic reticulum and mitochondria. **J. Physiol.**, 2000; 525(2): 355–361.

INFLUENCE OF CALIXARENE C-99 ON CONTRACTILE ACTIVITY OF RAT LARGE INTESTINE SMOOTH MUSCLES

O. V. Tsybalyuk

*Taras Shevchenko National University of Kyiv, 64, Volodymyrska St., Kyiv 01601, Ukraine
e-mail: otsymbal@bigmir.net*

The regularities of influence of new high-affinity inhibitor of plasma membrane sodium pump calixarene C-99 on the contractile activity of rat's large intestine circular smooth muscle were studied. It was found that under preliminary complete blockage of the sodium pump using ouabain (100 μM) the calixarene C-99 (100 γM) causes activation of smooth muscles spontaneous contractions. It has been also found that under ouabain preliminary action the calixarene changes mechanokinetic parameters of contractile responses to depolarization of smooth muscle cells plasma membranes via potassium solution (80 mM), as well as per application of the muscarinic acetylcholine agonist (10 μM). It has been shown that calixarene C-99 has no effect on the Ca^{2+} mobilization from the sarcoplasmic reticulum. Thus, the calixarene C-99 action on intestinal smooth muscles is not limited to the plasma membrane's sodium pump blocking. Possible mechanisms of action calixarenes C-99 on smooth muscle's contractile activity are discussed.

Keywords: smooth muscle, calixarene C-99, the sodium pump, mechanokinetics, spontaneous and induced contractions.

ВЛИЯНИЕ КАЛИКСАРЕНА С-99 НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МЫШЦ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА КРЫС

О. В. Цимбалюк

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
ул. Владимирская, 64/13, Киев 01601, Украина
e-mail: otsymbal@bigmir.net*

Исследованы закономерности влияния нового высокоаффинного ингибитора натриевой помпы плазматической мембраны – каликсарена С-99 на сократительную активность кольцевых гладких мышц толстого кишечника крыс. Установлено, что в условиях предварительного полного блокирования натриевой помпы убаином (100 мкМ) каликсарен С-99 (100 мкМ) вызывает активацию спонтанных сокращений гладких мышц. Также обнаружено, что этот каликсарен в условиях предварительного действия убаина меняет механокинетические параметры сократительных реакций на деполяризацию плазматической мембраны гладкомышечных клеток гиперкалиевым раствором (80 мМ) и на аппликацию агониста мускариновых холинорецепторов ацетилхолина (10 мкМ). Показано, что каликсарен С-99 не влияет на мобилизацию ионов Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума. Таким образом, сделан вывод, что действие каликсарена С-99 на гладкие мышцы кишечника не ограничивается блокированием натриевой помпы плазматической мембраны. В работе обсуждаются возможные механизмы действия каликсарена С-99 на сократительную активность гладких мышц.

Ключевые слова: гладкие мышцы, каликсарен С-99, натриевая помпа, механокинетика, спонтанные и вызванные сокращения.

Одержано: 15.11.2016