

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА  
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Завідувач кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики

Доцент, к. б. н. Нипороко Олексій Юрійович

Протокол №\_\_ засідання кафедри

Від «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_

**ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНОКІНЕТИКИ СПОНТАННИХ СКОРОЧЕНЬ  
ВІСЦЕРАЛЬНИХ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ ЗА СУБХРОНІЧНОЇ І  
ХРОНІЧНОЇ ДІЇ *IN VIVO* НАНОЧАСТИНОК ZNO**

Випускна кваліфікаційна робота магістра

студента спеціальності

091 Біологія

ОП «Біоінформатика і структурна біологія»

**Дмітрієва Володимира Олександровича**

Науковий керівник

доктор біол. наук, професор кафедри

молекулярної біотехнології та біоінформатики

**Цимбалюк Ольга Володимирівна**

Оцінка захисту роботи

---

КИЇВ -2022 р.

## АНОТАЦІЯ

**Дмітрієв В. О. Дослідження механокінетики спонтанних скорочень вісцеральних гладеньких м'язів за субхронічної і хронічної дії *in vivo* наночастинок ZnO. – Випускна кваліфікаційна робота магістра за спеціальністю 091 Біолгія ОП «Біоінформатика і структурна біологія».**

На даний момент в світі є надзвичайно актуальною проблема цитотоксичності нанорозмірних ксенобіотиків, які є частиною промислових процесів та забруднювачами навколишнього середовища.

Метою роботи було комплексне, мультипараметричне дослідження фізіологічних механізмів скоротливої активності міоцитів вісцеральних гладеньких м'язів за дії нанорозмірного оксиду цинку. Тензометричним методом в ізометричному режимі досліджено спонтанну скорочувальну активність ізольованих кільцевих гладеньких м'язів *antrum* і *caecum* і поздовжніх гладеньких м'язів рогів матки щурів за субхронічного (30 діб) і хронічного (100 і 180 діб) навантаження *in vivo* водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу). За використання методу багатопараметричного механокінетичного аналізу показано, що за дії субхронічної і хронічної дії *in vivo* нанорозмірного ZnO суттєво змінюються силові ( $F_{max}$ ,  $F_C$  та  $F_R$ ), часові ( $\tau_0$ ,  $\tau_C$  і  $\tau_R$ ), імпульсні ( $I_{max}$ ,  $I_C$  та  $I_R$ ) та швидкісні параметри ( $V_C$  і  $V_R$ ), що дозволяє передбачити порушення як процесів надходження, так і екструзії іонів  $Ca^{2+}$  в робочих міоцитах під час спонтанної скорочувальної активності. Встановлено, що зі збільшенням терміну навантаження організму щурів нанорозмірним ZnO спостерігається адаптація скорочувальної активності та відновлення ефективності функціонування вісцеральних гладеньких м'язів.

Отримані результати є принципово новими та перспективними у фармакологічній та медичній галузі для вивчення токсичності наночастинок ZnO та їх впливу на скорочувальну активність вісцеральних гладеньких м'язів.

**Ключові слова:** наночастинки ZnO, субхронічна і хронічна дія *in vivo*, вісцеральні гладенькі м'язи, спонтанна скорочувальна активність, багатопараметричний механокінетичний аналіз.

## ЗМІСТ

Перелік скорочень.....	6
Вступ.....	8
Розділ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	10
1 Наночастинки ZnO як цитотоксичні ксенобіотики.....	10
1.1.1 Загальні властивості нанорозмірних матеріалів та шляхи їх надходження у внутрішнє середовище організму.....	10
1.1.2 Фізико-хімічні властивості наночастинок ZnO.....	11
1.1.3 Токсичні властивості нано-ZnO.....	12
2.2. Вісцеральні гладенькі м'язи .....	13
2.2.1. Гладенькі м'язи шлунку.....	14
2.2.2. Гладенькі м'язи товстого кишечника.....	15
2.2.3. Міометрій.....	15
Розділ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	17
2.1. Вивчення скорочувальної активності багатоклітинних препаратів вісцеральних гладеньких м'язів.....	17
2.2. Механокінетичний аналіз спонтанних скорочень.....	18
2.3. Статистичний аналіз.....	25
3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	25
3.1. Спонтанна скорочувальна активність гладеньких м'язів шлунку щурів за субхронічної і хронічної дії суспензії нанорозмірного ZnO.....	25
3.2. Спонтанна скорочувальна активність гладеньких м'язів товстого кишечника щурів за субхронічної і хронічної дії суспензії нанорозмірного ZnO.....	35
3.3. Спонтанна скорочувальна активність міометрія щурів за субхронічної і хронічної дії суспензії нанорозмірного ZnO.....	39
3.4. Відносні зміни механокінетичних параметрів спонтанних скорочень вісцеральних гладеньких м'язів щурів за субхронічної і хронічної дії	

суспензії	нанорозмірного
ZnO.....	44
Висновки.....	47
Список використаних джерел.....	49

## ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

ГМ – гладенький м'яз

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

ІСС – інтерстиціальна клітина Кахалія

ІСС-МУ – ІСС в Ауербаховому сплетенні

ІСС-SM – ІСС в Мейснеровому сплетенні

МХ – мітохондрія

ПМ – плазматична мембрана

СР – саркоплазматичний ретикулум

АФК – активні форми кисню

ДАГ – діацилгліцерол

ДМСО – диметилсульфоксид

НБР – номінально безкальцієвий розчин Кребса

НЧ – наночастинка

ZnO – оксид цинку

$t$  – час

$\tau_C$  та  $\tau_R$  – характеристичні часи у випадку ізометричної механокінетичної кривої у точках її перегину на рівні фаз скорочення та розслаблення відповідно

$f$  – миттєва (у момент часу  $t$ ) сила ізометричного скорочення м'язу

$F_C$  і  $F_R$  – значення сили ізометричного скорочення м'язу у часових точках перегину  $(d^2f/dt^2)_{\tau_C, \tau_R} = 0$  на рівні фаз скорочення та розслаблення в моменти характеристичного часу  $\tau_C$  та  $\tau_R$ , відповідно

$F_{\max}$  – максимальне (амплітудне) значення сили ізометричного скорочення м'язу  $f$  в момент часу  $\tau_0$  ( $(df/dt)_{\tau_0} = 0$ )

$I$  – імпульс сили скорочення м'язу

$I_C$  і  $I_R$  – значення імпульсу сили ізометричного скорочення м'язу у часових точках перегину  $(d^2f/dt^2)_{\tau_C, \tau_R} = 0$  на рівні фаз скорочення та розслаблення в моменти характеристичного часу  $\tau_C$  та  $\tau_R$ , відповідно

$V_C$  – максимальна швидкість зміни сили ізометричного скорочення м'язу на рівні суто фази скорочення

$V_{nc}$  – максимальна нормована на амплітуду  $F_{max}$  швидкість зміни сили ізометричного скорочення м'язу на рівні суто фази скорочення

$V_R$  – максимальна швидкість зміни сили ізометричного скорочення м'язу на рівні суто фази розслаблення

$V_{nr}$  – максимальна нормована на амплітуду  $F_{max}$  швидкість зміни сили ізометричного скорочення м'язу на рівні суто фази розслаблення

$n$  – емпіричний параметр, який входить у механокінетичне рівняння та не має розмірності

$k$  – емпіричний параметр, який входить у механокінетичне рівняння та має розмірність «час<sup>-1</sup>». Також використовуються для позначення силових константи процесу деформації ( $k_1$  – для навантаження,  $k_2$  – для розвантаження)

' – штрихові символи, віддзеркалюють значення механокінетичних параметрів, визначених при аналізі скорочувальної активності препаратів щурів, навантажених ZnO

## ВСТУП

Гладеньком'язова тканина формує структурно-функціональну основу стінок багатьох внутрішніх органів і фізіологічних систем (судин, шлунково-травного тракту, сечостатевої системи, повітроносних шляхів тощо). У основі її функціонування лежить здатність змінювати довжину у відповідь на збудливі (скорочуватись) або гальмівні (розслаблятись) стимули, активно модулюючи при цьому напруження всередині порожнин. Збудливість вісцеральних гладеньких м'язів суттєво залежить не лише від нейрональних впливів з боку автономної і ентеральної нервової системи, але й значною мірою визначається фізико-хімічними факторами (температура, рН, концентрації йонів), а також фармакологічними і токсикологічними чинниками внутрішнього середовища.

Сучасні високі технології передбачають активне впровадження використання наноструктур (нанотрубок, квантових точок, наночастинок та ін.) у різноманітні технологічні промислові процеси. Наноматеріали з наперед заданими фізико-хімічними властивостями, що визначаються саме їх розміром - активною змінною, мають надлишкову енергію та високу хімічну реакційну здатність, що спричиняє утворення речовин з новими властивостями.

На сьогоднішній день нанорозмірний ZnO використовується у сучасній фармакології в якості антимікробного консерванту фармакологічних препаратів, протимікробних лікарських засобів. Також ZnO використовується в якості харчової добавки. Проте, відкритим залишається питання щодо дії такого нанорозмірного матеріалу за тривалого надходження в організм, зокрема, на моторику вісцеральних гладеньких м'язів.

Дипломна робота виконувалась на базі кафедри молекулярної біології та біоінформатики Навчально-наукового інституту високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Об'єктом

дослідження є закономірності субхронічної дії *in vivo* наночастинок ZnO на функціонування вісцеральних гладеньких м'язів (шлунку, товстого кишечника, матки) щурів. Метою – комплексне, мультипараметричне дослідження фізіологічних механізмів скоротливої активності міоцитів за дії нанорозмірного оксиду цинку. Дослідження включають в себе як стандартні фізіологічні, так і методи кінетичного аналізу. Отримані результати є принципово новими та перспективними у фармакологічній та медичній галузі для вивчення токсичності наночастинок ZnO та їх впливу на скорочувальну активність гладеньких м'язів.

Відповідно до мети поставлено такі завдання:

1. Дослідити скорочувальну активність мультиклітинних гладеньком'язових препаратів шлунку, товстого кишечника і матки щурів у контролі та за субхронічного і хронічного навантаження організму щурів водною суспензією наночастинок ZnO;
2. Здійснити мультипараметричний кінетичний аналіз спонтанних скорочень гладеньком'язових препаратів шлунку, товстого кишечника і матки щурів у контролі та за субхронічного і хронічного навантаження організму щурів водною суспензією наночастинок ZnO;
3. Встановити кількісні зміни та передбачити клітинні механізми функціонування вісцеральних гладеньких м'язів шлунку щурів за дії *in vivo* ZnO.

## РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Наночастинки ZnO як цитотоксичні ксенобіотики

#### 1.1.1. Загальні властивості нанорозмірних матеріалів та шляхи їх надходження у внутрішнє середовище організму

Наноматеріали (НМ) — це практично будь-які об'єкти, речовини або їх композиції, розміри структурних елементів яких знаходяться в «нанодіапазоні» (від 1 до 100 нм) і призначені для виробництва, виготовлення виробів, корисних людині. Ці матеріали з незвичайною атомно-кристалічною решіткою та унікальними властивостями називають також ультрадисперсними матеріалами (УДМ), ультрадисперсними системами (УДС), або наноструктурованими матеріалами (НСМ). Уперше термін «НСМ» був уведений у 1981 р. одним із провідних розробників наноматеріалів професором Гербертом Гляйтером (Herbert Gleiter).[1]

Особливе значення наноматеріали мають для медицини та фармації. Їх мізерний розмір дозволяє нанопристроєм проникати в будь-які важкодоступні ділянки людського тіла. Це дає величезні можливості використання наноматеріалів при створенні нанопристроїв і наноліків, перспективних для: ранньої діагностики захворювань; цільової доставки ЛП; відновлення ушкоджених органів і тканин; лікування тяжковиліковних захворювань; дезінфекції, детоксикації тощо.[2]

Основою і діючими агентами наноматеріалів є власне наночастинки (НЧ), які мають розміри менше 100 нм в діаметрі. Токсичні ефекти НЧ проявляються навіть у тих випадках, коли великі частки відповідних сполук нетоксичні [1] і значною мірою можуть коригуватися за рахунок їхньої стабілізації, модифікації та функціоналізації [3].

Зменшення розміру часток речовини до нанорозмірних величин ( $10^{-9}$  м) призводить до змін їхніх фізико-хімічних і біологічних властивостей,

які потенційно і реально можуть бути корисними. Але як наслідок цього – висока реакційна здатність НЧ може сприяти підвищенню їхньої токсичності. Потенційну токсичність НЧ не можливо, з теоретичної точки зору, передбачити через токсичність об'ємних матеріалів такої ж хімічної природи. Згідно з даними літератури, у НМ вона практично завжди більша, особливо при довготривалому надходженні до організму [4].

Шляхи потрапляння НЧ в організм:

- Парентеральний (внутрішньовенно, внутрішньом'язово або підшкірно) [5]
- Пероральний [6],
- Ректальний [7],
- Офтальмологічний [8],
- Місцевий (у косметиці та дерматологічних препаратах)[9].

### **1.1.2. Фізико-хімічні властивості наночастинок ZnO**

Наночастинки оксиду цинку це білий порошок без запаху який також може бути представлений у вигляді розчину. Розчинність визначали шляхом змішування 10 грам оксиду цинку в 100 мл демінералізованої води протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Після перемішування суспензію центрифугували протягом 6 годин для відділення (нерозчинених) частинок оксиду цинку від розчину. Після центрифугування розчини були не повністю прозорими, і був помітний синій осад.

Додаткові фізико-хімічні характеристики

Температура плавлення: 1975°C

Щільність: 5,47 г/см<sup>2</sup>

Молярна маса: 81г./моль [10]

Форми наночастинок ZnO: гексагональна, сферична, циліндрична та кубоїдна (Рис. 1.1).

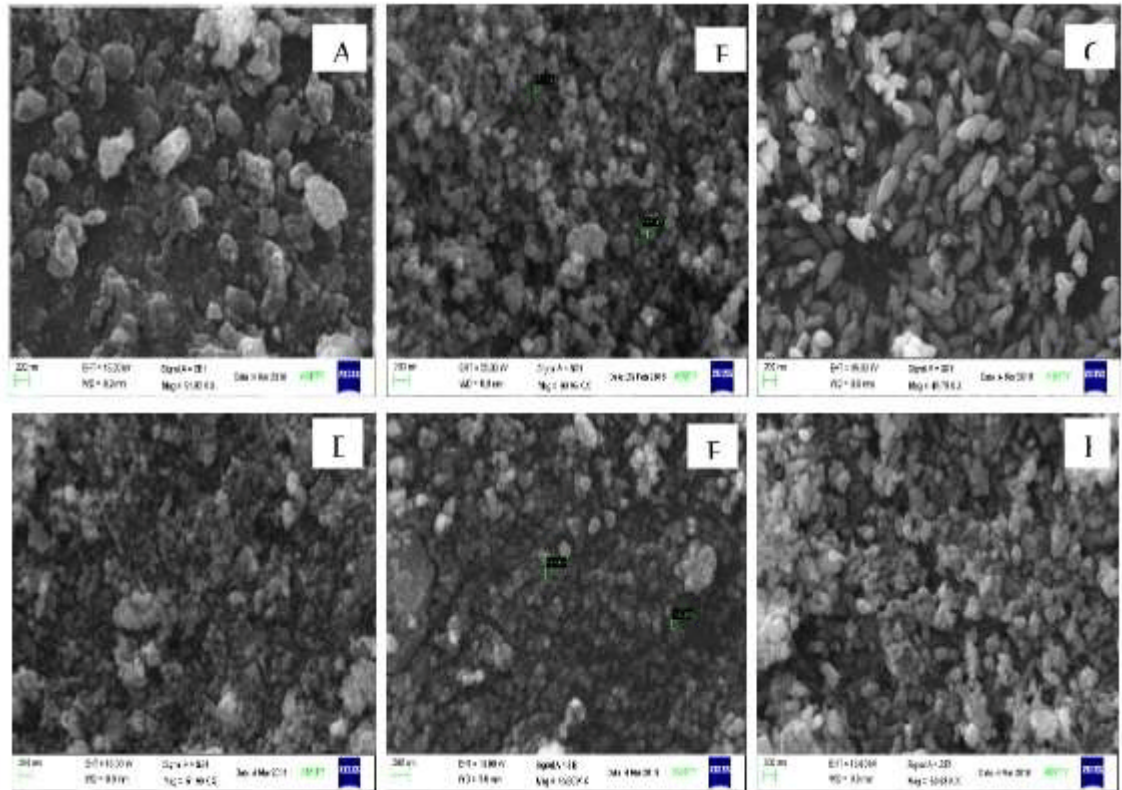


Рис.1.1. Форми наночастинок ZnO

### 1.1.3. Токсичні властивості нано-ZnO та їх клітинні механізми

Цитотоксичність оксиду цинку вивчалася багатьма дослідниками на різноманітних мікробах і рослинних системах. Токсичність НЧ ZnO залежить від концентрації та розчинності. Показано, що максимальна експозиція суспензії оксиду цинку (125 мг/л) виділяє 6,8 мг/л іонів  $Zn^{2+}$ . Токсичність – це комбінований вплив НЧ ZnO та іонів  $Zn^{2+}$ , що виділяються у водному середовищі. Проте виявлено мінімальний вплив іонів металів, що свідчить про те, що пригнічення росту бактерій пов’язане переважно з взаємодією НЧ ZnO з мікроорганізмами. Цитотоксична дія конкретної НЧ оксиду металу є видочутливою, що відображається в зоні інгібування росту кількох бактерій[11]

Дослідження на тваринах вказують на збільшення запалення легенів, окислювального стресу тощо при респіраторному впливі НЧ [12]. Янг та ін.

[13] досліджували цитотоксичність, генотоксичність та окислювальний стрес НЧ ZnO на первинних фібробластних клітинах ембріона миші. Було помічено, що наночастинки оксиду цинку викликають значно більшу цитотоксичність, ніж НЧ вуглецю та SiO<sub>2</sub>. Далі це було підтверджено шляхом вимірювання виснаження глутатіону, виробництва малонового діальдегіду, інгібування супероксиддисмутази та генерації АФК. Потенційні цитотоксичні ефекти різних НЧ пояснюють їх формою.

## 2.2. Вісцеральні гладенькі м'язи

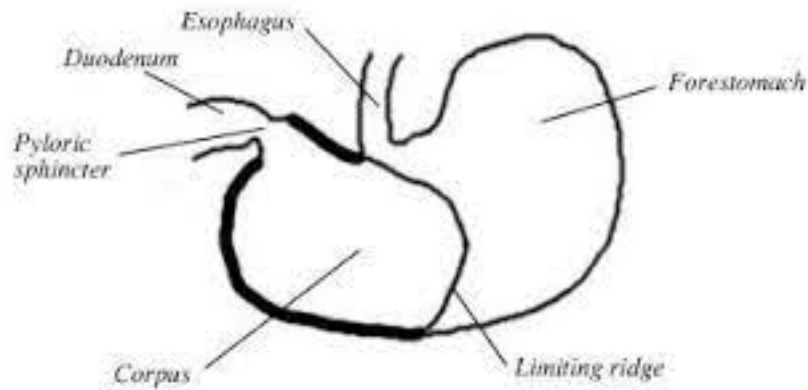
Гладеньком'язова тканина складає структурно-функціональну основу багатьох порожнистих органів та систем, зокрема травного тракту, серцево-судинної та сечостатевої системи, дихальних шляхів. За традиційною класифікацією ГМ поділяють на два типи: фазні та тонічні. До тонічних м'язів належать ГМ стінок кровоносних судин та дихальних шляхів; їх функція полягає у підтриманні певного діаметру стінок порожнини. До фазних м'язів належать, зокрема ГМ стінок шлунково-кишкового тракту, матки, сечового міхура і сечоточників; вони здатні генерувати фазні скорочення. Гістологічні і метаболічні особливості гладеньком'язового шару тих чи інших органів у значній мірі визначаються розташуванням та функцією, які для нього характерні

Гладеньком'язова тканина крім «робочих» скорочувальних гладеньком'язових клітин містить у своїй структурі нейрони, пейсмейкерні інтестинальні клітини, фібробласти, макрофаги та мастоцити.

Інтерстиціальні клітини Кахаля – тип клітин, названих на ім'я Сантьяго Рамона-і-Кахаля, що містяться в гладенькій мускулатурі, найбільш вивчені у тканинах ШКТ, виконують функцію водіїв ритму [18]. Згідно однієї з теорій, інтерстиціальні клітини Кахаля є похідними мезенхіми. Також існує точка зору, згідно з якої дані клітини є похідними вентральної частини нервової трубки [19]

### 2.2.1 Гладенькі м'язи шлунку

Шлунок живих істот виконує ряд функцій. Він слугує резервуаром для проковтнутої їжі, яка тут перемішується і частково перетравлюється під впливом шлункового соку. Також шлунок виконує секреторні, ендокринні, всмоктувальні функції. У слизовій оболонці шлунку утворюється антианемічний фактор, який сприяє поглинанню вітаміну В12, котрий потрапляє з їжею.[14]



**Рис. 1.2.** Схематична діаграма шлунка щура із зображенням передньої частини шлунка.

У гризунів лише одна область шлунка, і багато з них повинні з'їсти їжу двічі, перш ніж почне поглинатися. Їжа з'їдається і проходить через нижню частину травного тракту, де вона покривається метаболітами, які допомагають її розщеплювати. Потім фекальний матеріал знову з'їдається і змішується з додатковою їжею. Ферменти і вода видаляються з одного разу пропущеного шлунком і використовуються для перетравлення нових поживних речовин. Сухі фекальні гранули остаточно виводяться[15].

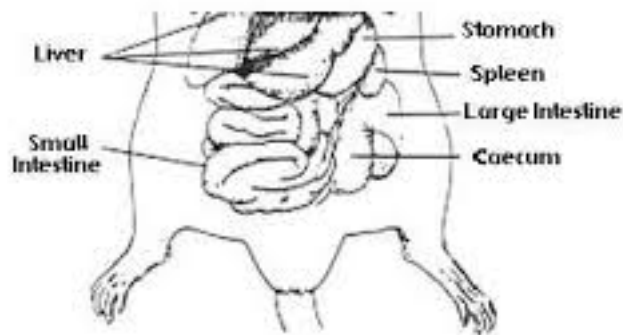
Шлунок щура являє собою великий мішок напівмісячної форми і важить від 3,90 до 8,50 г. [16]

Шлунок іннервується парасимпатичною (стимуляторним) і симпатичною (інгібіторною) частинами автономної системи, які регулюють

як секреторну активність шлунка, так і моторну (рухову) активність його м'язів.

### 2.2.2 Гладенькі м'язи товстого кишечника

Товста кишка ділиться на чотири сегменти: сліпа кишка, товста кишка, пряма кишка і анальний канал. Кожен вид має товстий кишечник, пристосований до їх особливого харчування. Загальною функцією товстого кишечника є завершення всмоктування, вироблення деяких вітамінів, утворення фекалій і виведення калу з організму. [17]



Source: [www.biologycorner.com/bio3/anatomy/rat\\_head.html](http://www.biologycorner.com/bio3/anatomy/rat_head.html)

Рис. 1.3 Схематичне зображення кишечника щура

### 2.2.3. Міометрій

Міометрій — це середній шар стінки матки, що складається в основному з гладких м'язових клітин матки (також звані міоцитами матки), але також із підтримуючої стромальної та судинної тканини. Його основна функція - викликати скорочення матки. [18]

Гладеньком'язовий шар матки (міометрій) є функціональним синцитієм [1]. Він належить до фазних гладеньких м'язів (ГМ) та здатний генерувати спонтанні скорочення, які мають ендогенне (міогенне) походження та лише модулюються, але не визначаються гормонами і нейромедіаторами. Крім гомогенних «робочих» гладеньком'язових клітин (ГМК), міометрій містить регуляторні клітини двох типів – телоцити та ІСС-подібні клітини (m-ICLC), які експресують тирозинкіназу c-Kit [2, 3, 4]. Ці клітини мають невелику сому і від 1 до 5 довгих виростів – телоподій, збагачених органелами (мітохондріями і ендоплазматичним ретикуломом) та зі значною кількістю кавеол у плазматичній мембрані. Регуляторні клітини і ГМК пов'язані між собою щільними контактами, формуючи функціональний синцитій міометрія.

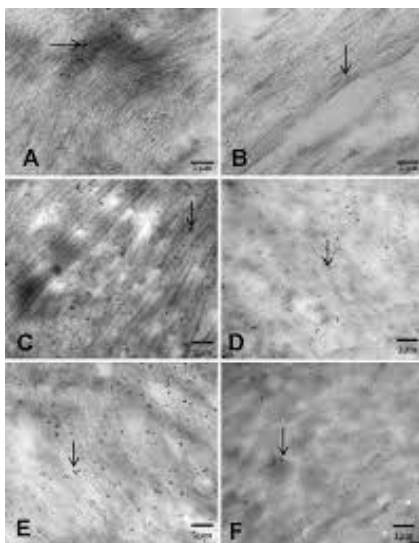


Рис 1.4 Імуноелектронна мікроскопія міометрія щура

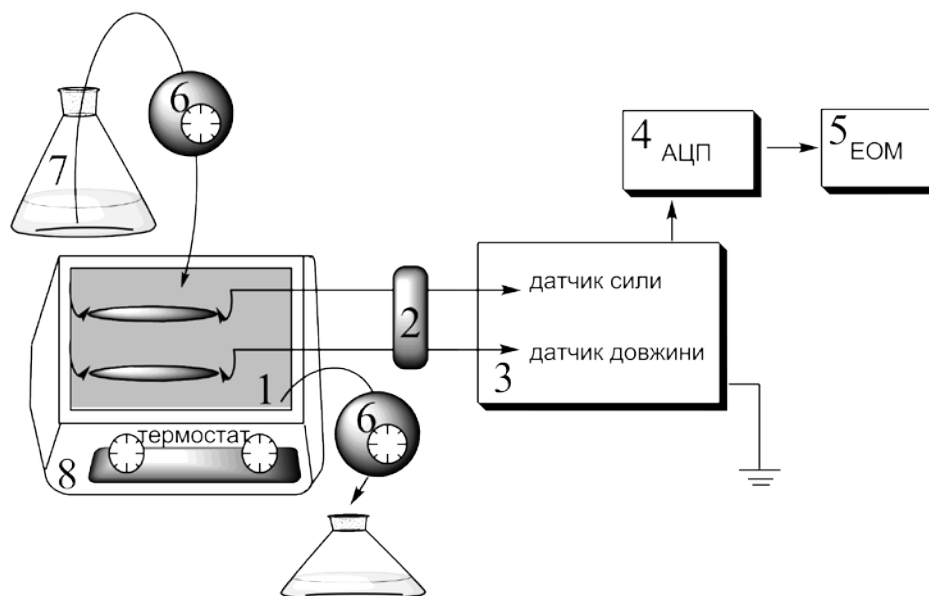
## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Вивчення скорочувальної активності багатоклітинних препаратів вісцеральних гладеньких м'язів

Механокінетичні властивості гладеньких м'язів шлунку досліджували на препаратах вісцеральних гладеньких м'язів нелінійних білих щурів. Усі експерименти за участі тварин проводили у відповідності до законодавства України та норм Європейського Співтовариства щодо гуманного поводження з лабораторними тваринами. Умертвіння щурів здійснювали із використанням ефірного наркозу.

Для дослідження скорочувальної активності використовували тензометричне устаткування виробництва майстерень Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України (Рис. 2.1).



**Рис. 2.1.** Блок-схема устаткування для тензометричних експериментів на багатоклітинних препаратах гладеньких м'язів: 1 - робоча камера, заповнена робочим розчином, з гладеньком'язовими препаратами, які закріплено на гачках; 2 – датчики сили (за умови реєстрації в ізометричних умовах) та переміщення (за умови реєстрації в ізотонічних умовах); 3 – підсилювач; 4 – аналого-цифровий перетворювач (АЦП); 5 – комп'ютер (ЕОМ); 6 – перестальтичні насоси; 7 – набір робочих розчинів; 8 – рідинний термостат.

М'язи антрального відділу шлунку (*antrum*) та сліпої кишки (*caecum*) попередньо під бінокулярним мікроскопом за допомогою мікроінструментів для очних операцій очищували від слизової оболонки та нарізали у кільцевому напрямку на смужки з середнім розміром 2 x 10 мм. Також тензометричні досліди проводили на препаратах (з середнім розміром 2 x 10 мм) поздовжніх гладеньких м'язів рогів матки зі збереженим ендометрієм.

Препаративні процедури і тензометричні експерименти проводили у розчині Кребса (мМ): 120,4 NaCl; 5,9 KCl; 15,5 NaHCO<sub>3</sub>; 1,2 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 1,2 MgCl<sub>2</sub>; 2,5 CaCl<sub>2</sub>; 11,5 глюкоза; значення рН розчину становило 7,4.

Інтрагастральну дозу нанорозмірного оксиду цинку (3 мг/кг/добу) було обрано у відповідності до протоколу щодо вірогідних дозових меж цього наноматеріалу (>50 мг/людина/добу; у перерахунку на одиницю ваги – 0,7 мг/кг/добу), які можуть викликати його токсичні прояви.

М'язові препарати вміщували в робочу камеру (об'єм 2 мл) з проточним розчином Кребса (швидкість протікання - 5 мл/хв), термостатовану при 37°C. Препарату надавали пасивний натяг на рівні 10 мН і залишали на 1 годину (до стабільної відтворюваності спонтанних скорочень), після цього спонтанні скорочення реєстрували і піддавали кінетичному аналізу. Скоротливу активність досліджували в ізометричному режимі за допомогою тензометричного датчика сили. Сигнали реєстрували, використовуючи аналого-цифровий перетворювач.

## 2.2. Механокінетичний аналіз спонтанних скорочень

Одне з емпіричних співвідношень, що потенційно може задовольняти вищезазначеним кінетичним закономірностям, властивим для кривої скорочення-розслаблення ГМ, може мати наступний вигляд:

$$f = A \cdot t^n \cdot e^{-kt}$$

Із даного співвідношення безпосередньо випливає:

$$A = \left(\frac{e}{\tau_0}\right)^n F_{max} = \left(\frac{ke}{n}\right)^n F_{max},$$

$$\tau_0 = \frac{\tau_C + \tau_R}{2} = \frac{n}{k},$$

$$\tau_C = \frac{n - \sqrt{n}}{k}, \quad \tau_R = \frac{n + \sqrt{n}}{k}$$

Відповідно до рівнянь для сили  $f=F_C$  в точці перегину ( $t=\tau_C$ ) на рівні фази скорочення механокінетичної кривої маємо:

$$F_C = F_{max} \cdot \left(\frac{n - \sqrt{n}}{n}\right)^n \cdot e^{\sqrt{n}}$$

Для швидкості скорочення  $V=V_C$  в цій точці, згідно співвідношенням, маємо:

$$V_C = k \cdot F_{max} \cdot \left(\frac{n - \sqrt{n}}{n}\right)^{n-1} \cdot \frac{e^{\sqrt{n}}}{\sqrt{n}}$$

Аналогічно для сили  $f=F_R$  в точці перегину ( $t=\tau_R$ ) на рівні фази розслаблення механокінетичної кривої маємо:

$$F_R = F_{max} \cdot \left(\frac{n + \sqrt{n}}{n}\right)^n \cdot e^{-\sqrt{n}}$$

а для швидкості розслаблення  $V_R$  в цій точці,

$$V_R = -k \cdot F_{max} \cdot \left(\frac{n + \sqrt{n}}{n}\right)^{n-1} \cdot \frac{e^{-\sqrt{n}}}{\sqrt{n}}$$

Згідно із залежностями на рівні фаз скорочення та розслаблення ГМ для значень імпульсів сили  $I_C$  та  $I_R$  у точках перегину з абсцисою  $\tau_C$  та  $\tau_R$  можна записати, відповідно

$$I_C = F_{max} \cdot \left(\frac{n-\sqrt{n}}{n}\right)^{n+1} \cdot \frac{n}{k} \cdot e^{\sqrt{n}}$$

$$I_R = F_{max} \cdot \left(\frac{n+\sqrt{n}}{n}\right)^{n+1} \cdot \frac{n}{k} \cdot e^{-\sqrt{n}}$$

Для імпульсу сили  $I$  у випадку повної механокінетичної кривої маємо співвідношення

$$I_{\tau_0} = F_{max} \cdot \tau_0 = F_{max} \cdot \frac{n}{k}.$$

Для аналізу повного профілю поодиноких спонтанних скорочень, їх лінеаризували у координатах  $\left[ \ln\left(\frac{f_R}{f_C}\right); \ln\left(1 + \frac{\Delta t}{t}\right) \right]$ , де  $f$  і  $t$  – миттєві значення сили та часу на рівні скоротливого циклу,  $F_C$  і  $F_R$  – відповідно значення сили в точках перегину механограми на рівні фаз скорочення (від початку зростання сили до її максимального значення  $F_{max}$ ) і розслаблення (від максимального значення сили  $F_{max}$  і до її повернення на базальний рівень),  $\Delta t$  – заданий довільно фіксований інтервал часу (він варіював у межах 5-10 с). Із лінеаризованих графіків визначали константи  $k$  і  $n$ , які надалі використовували для розрахунку параметрів: часових ( $\tau_0$ ,  $\tau_C$  і  $\tau_R$ ), силових ( $F_{max}$ ,  $F_C$  та  $F_R$ ), швидкісних ( $V_C$  і  $V_R$ ) та імпульсних ( $I_{max}$ ,  $I_C$  та  $I_R$ ) параметрів.

Відносні параметри (віддзеркалюють значення механокінетичних параметрів при дії будь-яких чинників, а нештрихові – контрольні значення):

**Часові відносні параметри:**

$$\frac{\tau_0}{\tau'_0} = \frac{n/k}{n'/k'}$$

– характеризує зміну часу досягнення максимальної сили  $F_{max}$  (при  $t=\tau_0$ ) при дії чинника відносно контрольного досліджу;

$$\frac{\tau_C}{\tau'_C} = \frac{(n-\sqrt{n})/k}{(n'-\sqrt{n'})/k'}$$

– характеризує зміну часу досягнення максимальної швидкості  $V_C$  на рівні фази скорочення  $\tau_C$  при дії чинника відносно контрольного досліджу;

$$\frac{\tau_R}{\tau'_R} = \frac{(n+\sqrt{n})/k}{(n'+\sqrt{n'})/k'}$$

– характеризує зміну часу досягнення максимальної швидкості  $V_R$  на рівні фази розслаблення  $\tau_R$  при дії чинника відносно контрольного досліджу;

$$\frac{\tau_R - \tau_C}{\tau'_R - \tau'_C} = \frac{k}{k'} \cdot \left(\frac{n}{n'}\right)^{1/2}$$

– характеризує зміну часової відстані між точкою досягнення максимальної швидкості розслаблення  $V_R$  та точкою досягнення максимальної швидкості скорочення  $V_C$  при дії чинника відносно контрольного досліджу.

**Силві відносні параметри** (відповідно до співвідношень (12), (15) та (19)):

$$\frac{F_{max}}{F'_{max}}$$

– характеризує зміну максимальної сили  $F_{max}$  (при  $t=\tau_0$ ) при дії чинника відносно контрольного досліджу;

$$\frac{F_C}{F'_C} = \frac{F_{max}}{F'_{max}} \cdot \frac{\left[ \frac{(n-\sqrt{n})}{n} \right]^n}{\left[ \frac{(n'-\sqrt{n'})}{n'} \right]^{n'}} \cdot e^{n'-\sqrt{n'}}$$

– характеризує зміну сили скорочення у точці перегину  $\tau_C$  при дії чинника відносно контрольного досліджу;

$$\frac{F_R}{F'_R} = \frac{F_{max}}{F'_{max}} \cdot \frac{\left[ \frac{(n+\sqrt{n})}{n} \right]^n}{\left[ \frac{(n'+\sqrt{n'})}{n'} \right]^{n'}} \cdot e^{n'-\sqrt{n'}}$$

– характеризує зміну сили розслаблення у точці перегину  $\tau_R$  при дії чинника відносно контрольного досліджу;

$$\frac{\left( \frac{F_C}{F_R} \right)}{\left( \frac{F'_C}{F'_R} \right)} = \frac{\left[ \frac{(n-\sqrt{n})}{(n+\sqrt{n})} \right]^n}{\left[ \frac{(n'-\sqrt{n'})}{(n'+\sqrt{n'})} \right]^{n'}} \cdot e^{2(\sqrt{n}-\sqrt{n'})}$$

– характеризує в точках перегину  $\tau_C$  та  $\tau_R$  механокінетичної кривої відносну зміну сили  $F_C$  до сили  $F_R$  при дії чинника відносно контрольного досліджу.

**Швидкісні відносні параметри:**

$$\frac{V_C}{V'_C} = \left( \frac{kF_{max}}{k'F'_{max}} \right) \cdot \frac{\left[ \frac{(n-\sqrt{n})}{n} \right]^{n-1}}{\left[ \frac{(n'-\sqrt{n'})}{n'} \right]^{n'-1}} \cdot \left( \frac{n'}{n} \right)^{1/2} \cdot e^{\sqrt{n}-\sqrt{n'}}$$

– характеризує зміну максимальної швидкості скорочення  $V_C$  у точці перегину  $\tau_C$  при дії чинника відносно контрольного досліджу;

$$\frac{V_R}{V'_R} = \left( \frac{kF_{max}}{k'F'_{max}} \right) \cdot \frac{\left[ \frac{(n+\sqrt{n})}{n} \right]^{n-1}}{\left[ \frac{(n'+\sqrt{n'})}{n'} \right]^{n'-1}} \cdot \left( \frac{n}{n'} \right)^{1/2} \cdot e^{\sqrt{n'}-\sqrt{n}}$$

– характеризує зміну максимальної швидкості розслаблення  $V_R$  у точці перегину  $\tau_R$  при дії чинника відносно контрольного досліджу;

$$\frac{\left( \frac{V_C}{V_R} \right)}{\left( \frac{V'_C}{V'_R} \right)} = \frac{\left[ \frac{(n-\sqrt{n})}{(n+\sqrt{n})} \right]^{n-1}}{\left[ \frac{(n'-\sqrt{n'})}{(n'+\sqrt{n'})} \right]^{n'-1}} \cdot e^{2(\sqrt{n}-\sqrt{n'})}$$

– характеризує в точках перегину механокінетичної кривої  $\tau_C$  та  $\tau_R$  зміну максимальної швидкості скорочення  $V_C$  до максимальної швидкості розслаблення  $V_R$  при дії чинника відносно контрольного досліджу.

**Імпульсні відносні параметри :**

$$\frac{I_C}{I'_C} = \left( \frac{k' F_{max}}{k F'_{max}} \right) \cdot \frac{\left[ \frac{(n - \sqrt{n})}{n} \right]^n}{\left[ \frac{(n' - \sqrt{n'})}{n'} \right]^{n'}} \cdot \frac{n - \sqrt{n}}{n' - \sqrt{n'}} \cdot e^{\sqrt{n} - \sqrt{n'}}$$

– характеризує зміну імпульсу сили  $I_C$  у точці перегину на рівні фази скорочення  $\tau_C$  при дії чинника відносно контрольного досліджу;

$$\frac{I_R}{I'_R} = \left( \frac{k' F_{max}}{k F'_{max}} \right) \cdot \frac{\left[ \frac{(n + \sqrt{n})}{n} \right]^n}{\left[ \frac{(n' + \sqrt{n'})}{n'} \right]^{n'}} \cdot \frac{n + \sqrt{n}}{n' + \sqrt{n'}} \cdot e^{\sqrt{n'} - \sqrt{n}}$$

– характеризує зміну імпульсу сили  $I_R$  у точці перегину на рівні фази розслаблення  $\tau_R$  при дії чинника відносно контрольного досліджу;

$$\frac{I_{\tau_0}}{I'_{\tau_0}} = \left( \frac{F'_{max}}{F_{max}} \right) \cdot \left( \frac{n/k}{n'/k'} \right)$$

– характеризує зміну імпульсу сили  $I_{\tau_0}$  у точці досягнення значення максимальної сили  $F_{max}$  (при  $t=\tau_0$ ) при дії чинника відносно контрольного досліджу.

### 2.3. Статистичний аналіз

Статистичний аналіз одержаних даних проводили із залученням методів варіаційної статистики. Кінетичні та статистичні розрахунки здійснювали з використанням програмного забезпечення MS Exel та Origin 2018.

Перевірку вибірок на їх приналежність до нормально розподілених генеральних сукупностей здійснювали за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами вибірок використовували t-критерій Стьюдента. У всіх випадках достовірними вважали результати за умови  $p < 0.05$ . Аналіз достовірності апроксимації даних лінійною функцією здійснювали із використанням F-критерію Фішера; коефіцієнти детермінації ( $R^2$ ) були не нижчими за 0,96. Результати представлені як середнє арифметичне  $\pm$  стандартна похибка середнього,  $n$  – кількість дослідів.

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

#### **3.1. Спонтанна скорочувальна активність гладеньких м'язів шлунку щурів за субхронічної і хронічної дії суспензії нанорозмірного ZnO**

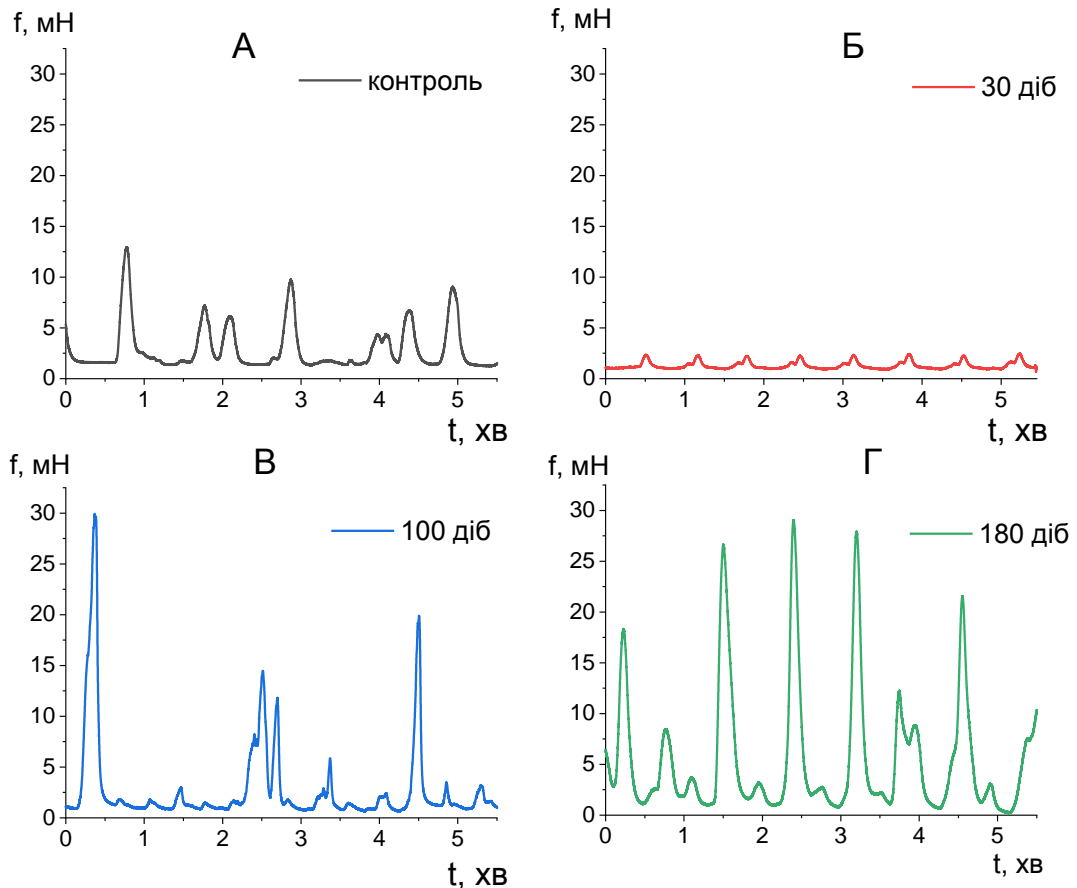
Гладеньком'язовий шар стінок внутрішніх органів у значній мірі визначає їх робочі властивості та здатність активно реагувати на ендogenousні функціональні потреби та зовнішні впливи [22]. Наразі надзвичайної актуальності набуло вивчення закономірностей і механізмів впливу нанорозмірних ксенобіотиків, які активно використовуються у промисловому виробництві, а також фармацевтичних і косметичній галузях та харчових технологіях. Так, відомо, що нанорозмірні об'єкти легко долають гістогематичні бар'єри, надходячи до внутрішнього середовища організму людини і накопичуючись надалі в значних кількостях в тканинах внутрішніх органів [23-25]. Так наночастинки проникають через ендотелій дихальних шляхів і тонкого кишечника, долають гематоенцефалічний і плацентарний бар'єри [26]. Зокрема, у ряді досліджень [27, 28] було переконливо встановлено, що тканини гладеньких м'язів накопичують значні кількості наночастинок металів і оксидів металів. Втім, дизайн зазначених досліджень передбачав вивчення перерозподілу і дії на внутрішні органи високих концентрацій наночастинок. Але натепер залишається не з'ясованим питання щодо ефектів довготривалого і хронічного надходження підвищених концентрацій нанорозмірних частинок оксидів металів, зокрема ZnO.

Вісцеральні гладенькі м'язи суттєво відрізняються за гістологічною структурою, пейсмейкерними механізмами генерування повільних хвиль деполяризації та спонтанних скорочень, а також властивостями регуляції їх збудження-скорочення і гальмування-розслаблення нейромедіаторами і гормонами. В основі формування скорочувальної активності ГМ стінок

травного тракту лежать механізми генерації спонтанних потенціалів дії складових гетерогенної популяції клітин – робочих міоцитів та різних типів інтерстиціальних клітин Кахаля (у стінці шлунка генераторами ритму є ICC-SM та ICC-MY), які утворюють між собою щільні контакти [29-31]. На противагу цьому спонтанні скорочення міометрія мають ендогенне (міогенне) походження та лише модулюються (але не визначаються) гормонами і нейромедіаторами. Крім власне «робочих» гладеньком'язових клітин (ГМК), міометрій містить регуляторні клітини двох типів – телоцити та ICC-подібні клітини (m-ICLC), які експресують рецепторну тирозинкіназу c-Kit [32-34].

Тому у нашій роботі тензометричним методом в ізометричному режимі досліджували зміни параметрів спонтанної скорочувальної активності мультиклітинних препаратів різних вісцеральних ГМ: кільцевих м'язів шлунково-кишкового тракту (*antrum* і *caecum*) та поздовжніх м'язів маткових труб щурів, за умови навантаження тварин упродовж 30, 100 та 180 діб водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу).

Проведені дослідження показали, що навантаження щурів водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу) упродовж різних періодів часу (30, 100 та 180 діб) спричиняють значні часо-залежні зміни спонтанних скорочень в гладеньких м'язах шлунку (Рис. 3.1). Так, за дії ZnO упродовж 30 діб спостерігалось суттєве пригнічення амплітуди спонтанних скорочень на тлі збільшення їх частоти удвічі щодо контролю. За дії цього наноматеріалу упродовж 100 діб і частота спонтанних скорочень ГМ *antrum*, і їх амплітуда збільшувались майже вдвічі. У випадку навантаження щурів водною суспензією нанорозмірного ZnO упродовж 180 діб спостерігалось подальше підвищення амплітуди спонтанних скорочень, а їх частота дещо зменшувалась порівняно з цим показником за 100 діб, але перевищувала контрольну.



**Рис. 3.1.** Спонтанна скорочувальна активність *antrum* щурів у контролі (А) та за умов навантаження організму упродовж 30, 100 та 180 діб водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу) (відповідно Б, В і Г). Наведено типові механограми.

Як відомо з досліджень К. Sanders, S. Ward та Е. Beckett [35-37], частота спонтанних скорочень ГМ травного тракту визначається внутрішньою активністю пейсмекерних клітин Кахаля з генерування спонтанних хвиль деполяризації. Амплітуда спонтанних скорочень визначається внутрішньоклітинною концентрацією іонів  $\text{Ca}^{2+}$  в міоцитах, які переважно надходять до цитоплазми через потенціалкеровані  $\text{Ca}^{2+}$ -канали плазматичної мембрани [38, 39].

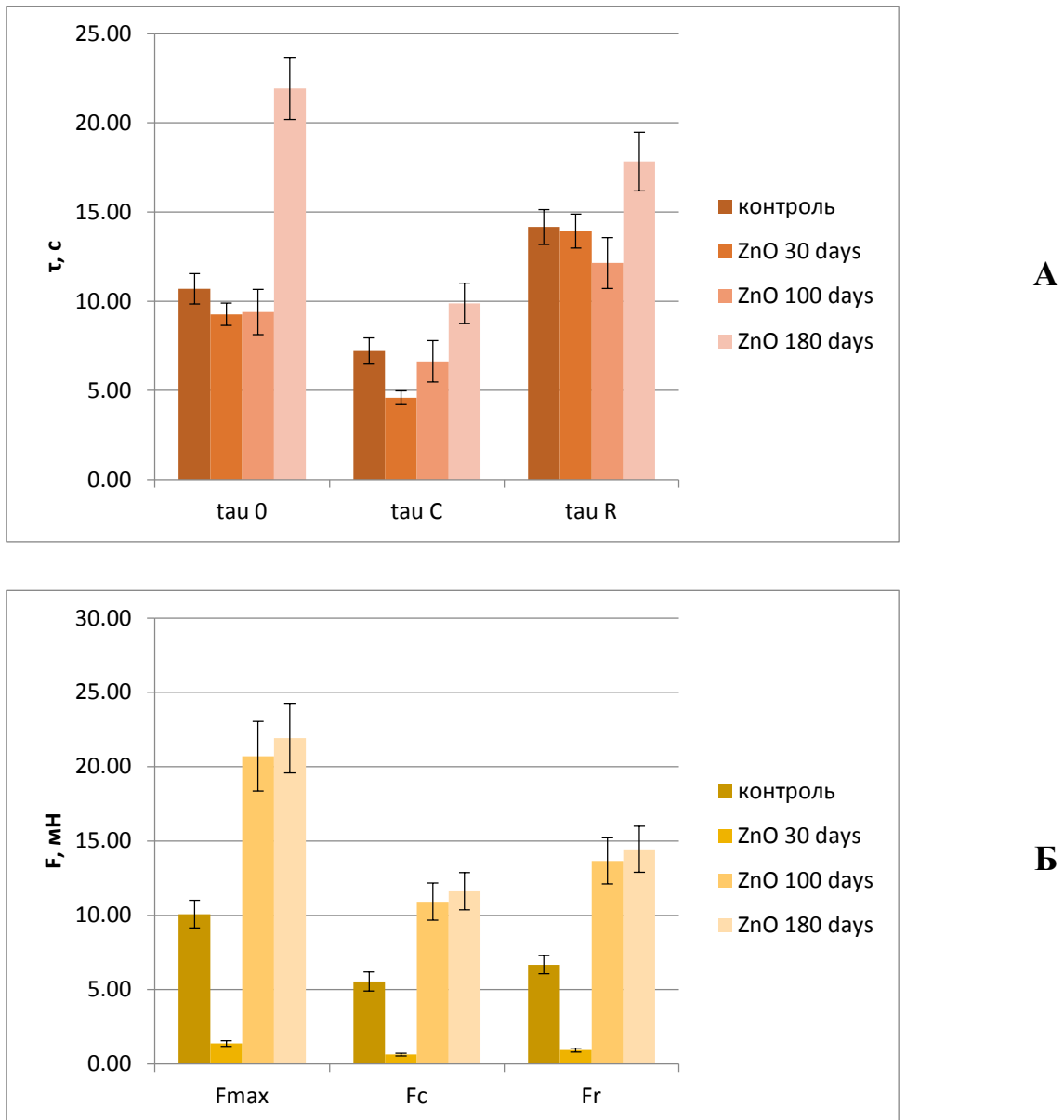
Тож можна передбачити, що одержані нами результати зміни частоти спонтанних скорочень ГМ *antrum* за хронічного надходження в організм суспензії нанорозмірного ZnO вказують на його здатність модулювати механізми пейсмеркерної активності в м'язовій тканині, тоді як здатність цього наноматеріалу індукувати зміни амплітуди скорочень, ймовірно пов'язані зі змінами величини внутрішньоклітинної концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  в міоцитах при активації скорочувальної активності.

Надалі окремі спонтанні скорочення (у випадку дії ZnO упродовж 100 діб – лише високо амплітудні) аналізували відповідно до методу багатопараметричного аналізу [40]. Встановлено, що за умов надходження в організм нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу) упродовж 30-180 діб, в гладеньких м'язах шлунку спостерігаються достовірні часо-залежні зміни окремих параметрів спонтанних скорочень (Рис. 3.1 та 3.2).

Так, за дії нанорозмірного ZnO упродовж 30 діб значно (у середньому на 80 %) зменшувалися силові ( $F_{\max}$ ,  $F_C$  та  $F_R$ ), імпульсні ( $I_{\max}$ ,  $I_C$  та  $I_R$ ) та швидкісні параметри ( $V_C$  і  $V_R$ ), тоді як часові параметри залишалися без змін.

У випадку хронічної дії нанорозмірного ZnO (упродовж 100 і 180 діб) спостерігалось зростання силових ( $F_{\max}$ ,  $F_C$  та  $F_R$ ), імпульсних ( $I_{\max}$ ,  $I_C$  та  $I_R$ ) та швидкісних параметри ( $V_C$  і  $V_R$ ), тоді як показники характеристичного часу ( $\tau_0$ ,  $\tau_C$  і  $\tau_R$ ) збільшувалися лише у випадку дії ZnO упродовж 180 діб.

Тож за хронічної дії нано-ZnO відбувається суттєве зростання усіх амплітудних, швидкісних і імпульсних параметрів, що, ймовірно вказує на наявність у ГМ *antrum* принаймні декількох «мішеней», чутливих до дії наноматеріалу та залучених у формування хвилі спонтанного скорочення як на рівні фази скорочення так і фази розслаблення. Зокрема можна передбачити посилення як процесів надходження, так і екструзії іонів  $\text{Ca}^{2+}$  під час спонтанної скорочувальної активності.

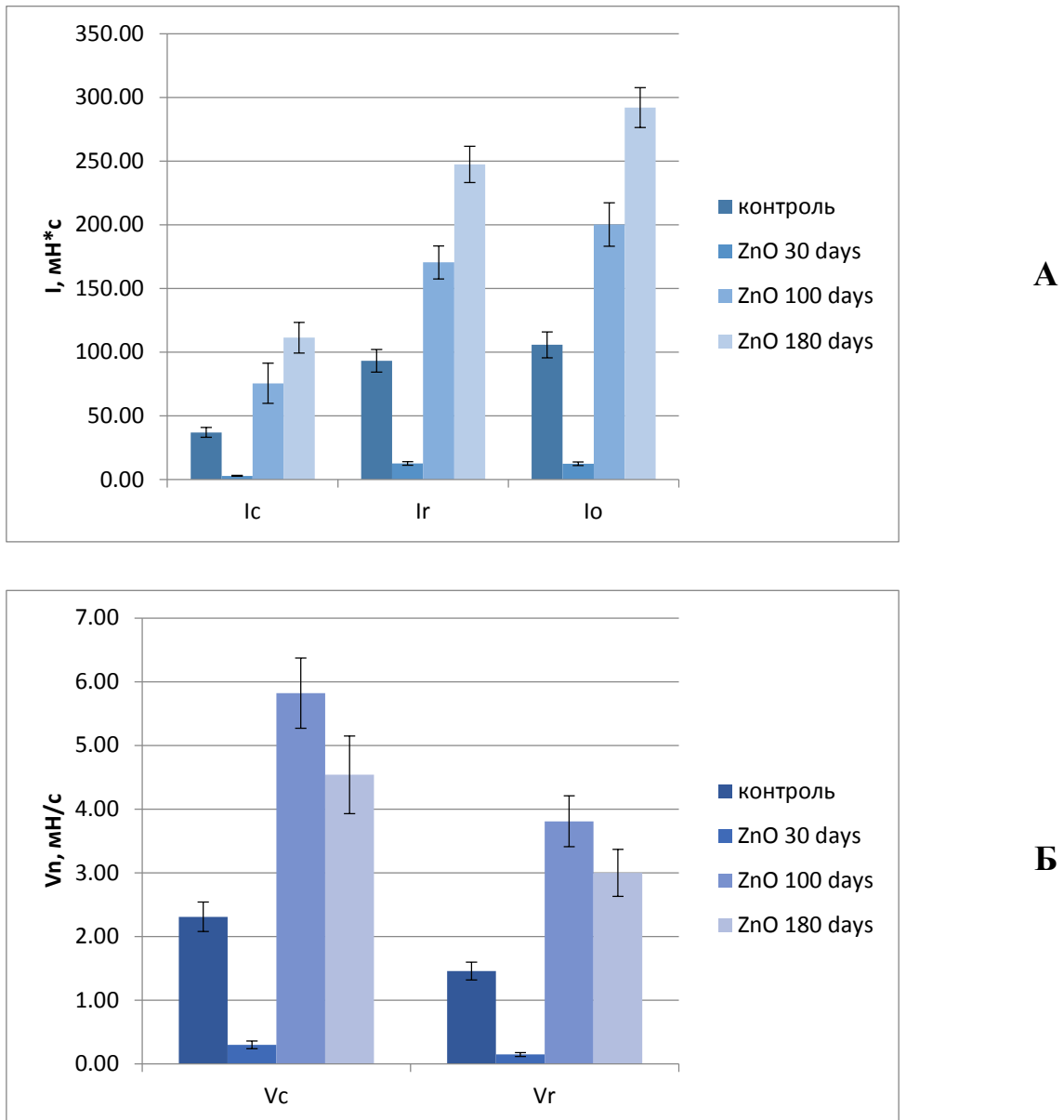


**Рис. 3.2.** Параметри спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів шлунку в контролі та рf навантаження щурів упродовж 30, 100 та 180 діб водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу):

А – часові параметри ( $\tau_0$ ,  $\tau_C$  і  $\tau_R$ );

Б – силові параметри ( $F_{\max}$ ,  $F_C$  та  $F_R$ );

За 100% прийнято відповідні показники спонтанної активності в контролі (n=6, \*\* - p<0.01 та \*\*\* - p<0.001 – різниця достовірна щодо контролю).



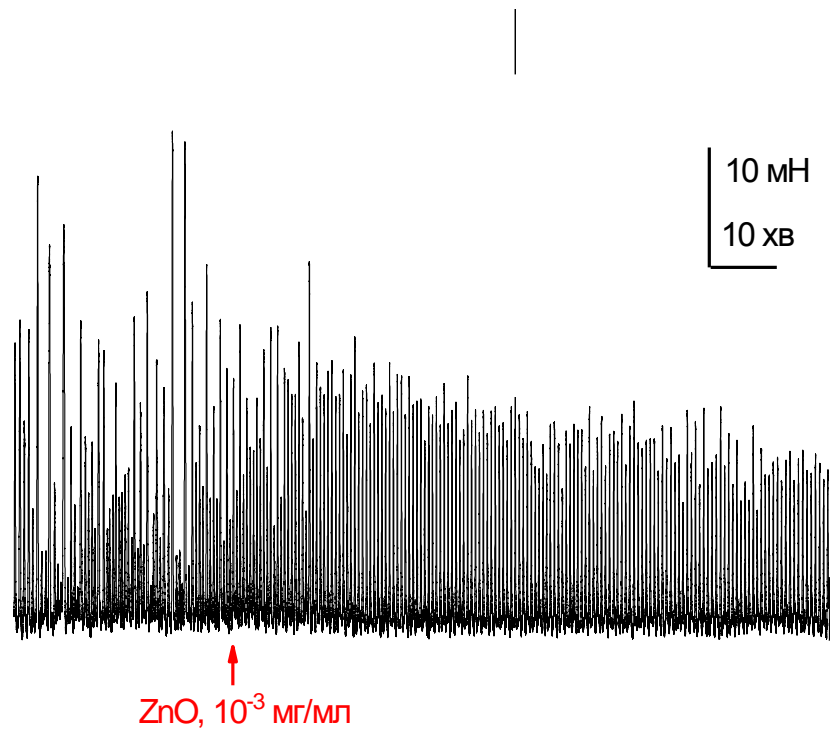
**Рис. 3.3.** Параметри спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів шлунку в контролі та рf навантаження щурів упродовж 30, 100 та 180 діб водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу):

А – імпульсні параметри ( $I_{\max}$ ,  $I_C$  та  $I_R$ );

Б – швидкісні параметри ( $V_C$  і  $V_R$ ).

За 100% прийнято відповідні показники спонтанної активності в контролі (n=6, \* -  $p < 0.05$  та \*\*\* -  $p < 0.001$  – різниця достовірна щодо контролю).

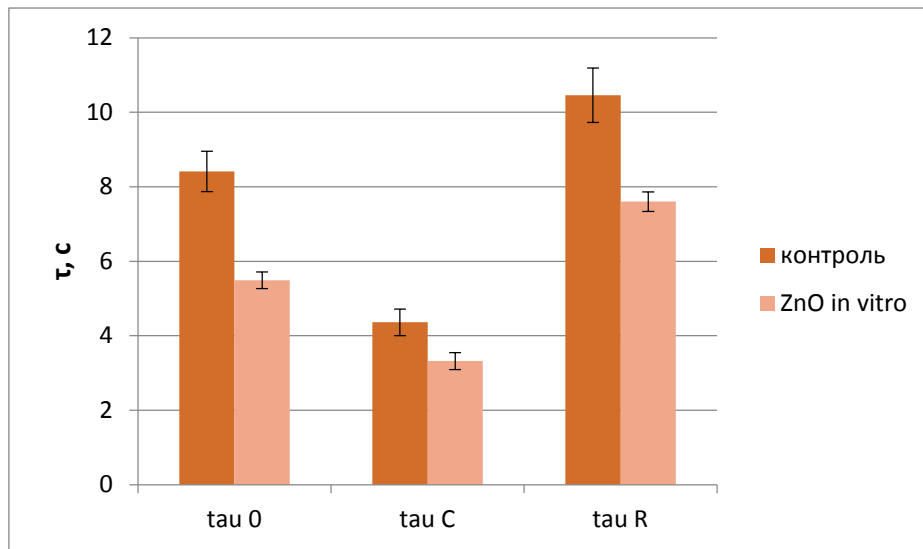
З метою визначення специфічності ефектів дії нанорозмірного ZnO за субхронічного і хронічного введення в організм *in vivo*, нами було досліджено спонтанну скорочувальну активність кільцевих гладеньких м'язів шлунку щурів за *in vitro* передінкубації ( $10^{-3}$  мг/мл) гладеньком'язових препаратів з суспензією нанорозмірного ZnO. Показано, що короткотривале перебування наночастинок *in vitro* спричиняє суттєве пригнічення амплітуди спонтанних скорочень, яке виявляється через 10 хв від початку дії ZnO та виходить на стабільний рівень за наступні півгодини (Рис. 3.4.)



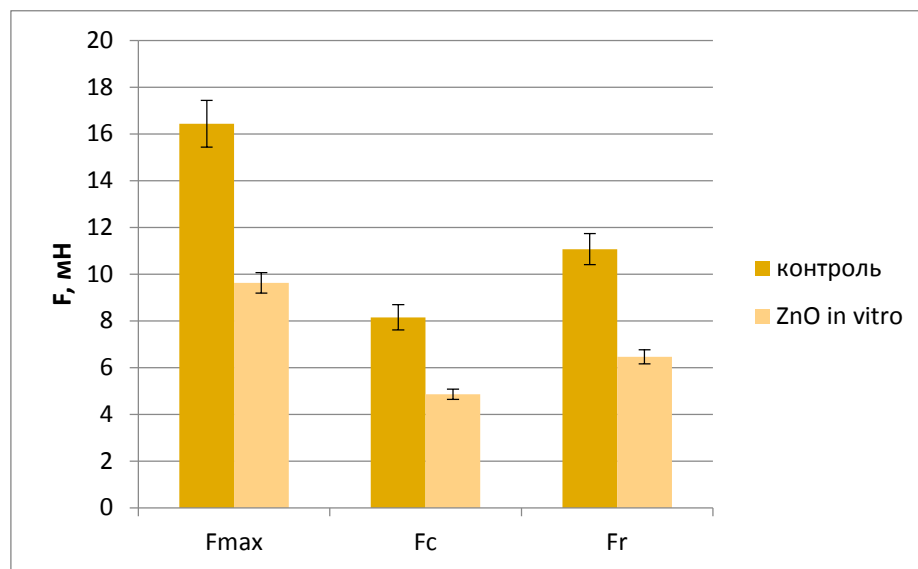
**Рис. 3.4.** Модуляція спонтанної скорочувальної активності препаратів кільцевих гладеньких м'язів *antrum* за передінкубації *in vitro* гладеньком'язових препаратів з суспензією нанорозмірного ZnO (концентрація  $10^{-3}$  мг/мл). Наведено типову механограму.

Надалі окремі спонтанні скорочення через 40 хв від початку інкубації було проаналізовано з використанням методу багатопараметричного аналізу [40]. Показано, що за даних умов аплікація *in vitro* водної суспензії

нанорозмірного ZnO ( $10^{-3}$  мг/мл) спричиняє достовірні зниження більшості визначених параметрів спонтанних скорочень (Рис. 3.5 та 3.6).



А



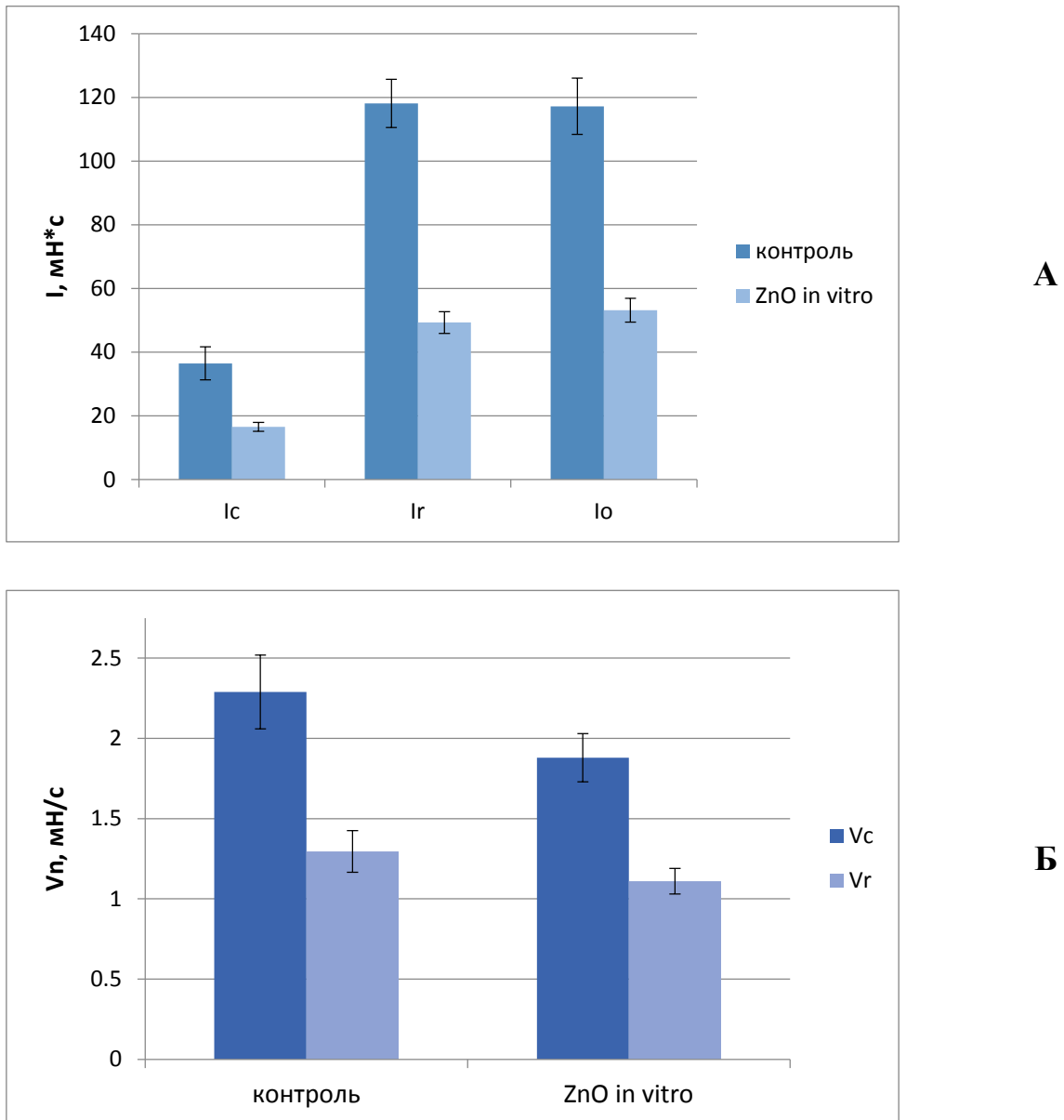
Б

**Рис. 3.5.** Параметри спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів шлунку в контролі та за передінкубації *in vitro* гладеньком'язових препаратів з суспензією нанорозмірного ZnO ( $10^{-3}$  мг/мл):

А – часові параметри ( $\tau_0$ ,  $\tau_C$  і  $\tau_R$ );

Б – силові параметри ( $F_{max}$ ,  $F_C$  та  $F_R$ );

За 100% прийнято відповідні показники спонтанної активності в контролі (n=6, \* -  $p < 0.05$  та \*\*\* -  $p < 0.001$  – різниця достовірна щодо контролю).



**Рис. 3.6.** Параметри спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів шлунку в контролі та за передінкубації *in vitro* гладеньком'язових препаратів з суспензією нанорозмірного ZnO (концентрація  $10^{-3}$  мг/мл):

А – імпульсні параметри ( $I_{\max}$ ,  $I_C$  та  $I_R$ );

Б – швидкісні параметри ( $V_C$  і  $V_R$ ).

За 100% прийнято відповідні показники спонтанної активності в контролі (n=6, \*\* -  $p < 0.01$  та \*\*\* -  $p < 0.001$  – різниця достовірна щодо контролю).

Так, за дії *in vitro* нанорозмірного ZnO суттєво знижуються механокінетичні параметри: часові ( $\tau_0$ ,  $\tau_C$  і  $\tau_R$ ) – у середньому на третину, силові ( $F_{max}$ ,  $F_C$  та  $F_R$ ) – у середньому на 40 %, імпульсні ( $I_{max}$ ,  $I_C$  та  $I_R$ ) – у середньому на 53 %. Втім швидкісні параметри ( $V_C$  і  $V_R$ ) хоча і мали деякі тенденції до зменшення (у середньому на 16 %), не зазнавали статистично значущих змін.

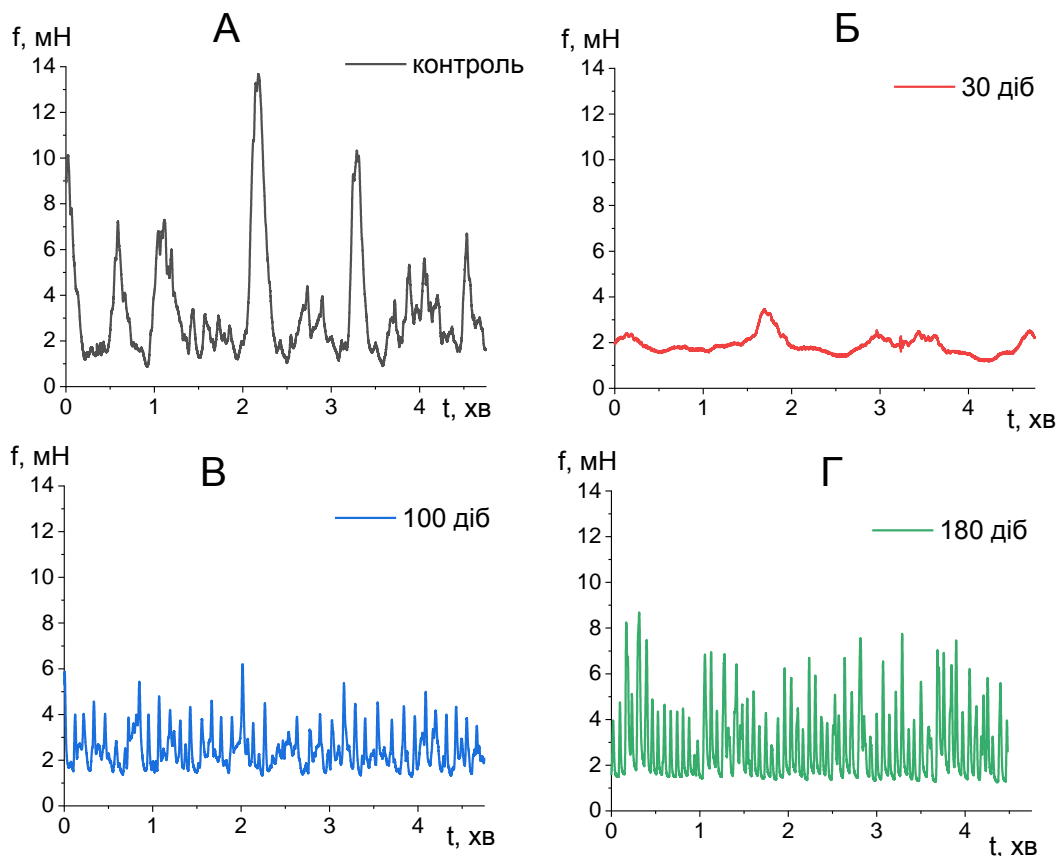
Можна передбачити клітинні механізми, за якими суспензія нанорозмірного ZnO пригнічує спонтанні скорочення тканини шлунку. За дослідженнями Wang X. та EL-Mekawi D. відомо [41-42], що у водному середовищі частина іонів  $Zn^{2+}$  дисоціює з поверхні наночастинок ZnO. Також відомо, що іони  $Zn^{2+}$  є модуляторами іонних каналів плазматичної мембрани, зокрема блокаторами потенціалкерованих  $Ca^{2+}$ -каналів [22-24]. Тож маємо всі підстави припустити, що ефект пригнічення скорочень *antrum* за короткочасної дії *in vitro* ZnO є результатом пригнічення процесів надходження  $Ca^{2+}$  іонами  $Zn^{2+}$  під час спонтанної скорочувальної активності. На користь цього припущення свідчить також відсутність змін швидкісних параметрів, тож можемо припустити просте зменшення потоку  $Ca^{2+}$  без залучення інших молекулярних мішеней.

Отже, за субхронічної дії (упродовж 30 діб) нано-ZnO спричиняє значне інгібування амплітуди (але не частоти) спонтанних скорочень ГМ *antrum*, яке на рівні окремих скорочень за тенденціями зміни механокінетичних параметрів подібне до ефектів *in vitro* цього наноматеріалу. За хронічної дії *in vivo* остерігається суттєве збільшення сили і частоти спонтанних скорочень гладеньких м'язів *antrum*, що вказує на його здатність модулювати механізми пейсмейкерної активності у тканині ГМ та, ймовірно посилювати надходження іонів  $Ca^{2+}$  до міоцитів.

### 3.2. Спонтанна скорочувальна активність гладеньких м'язів товстого кишечника щурів за субхронічної і хронічної дії суспензії нанорозмірного ZnO

На наступному етапі було досліджено ефекти навантаження щурів водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу) упродовж різних періодів часу (30, 100 та 180 діб) на спонтанну скорочувальну активність ГМ товстого кишечника (на прикладі кільцевих ГМ *caecum*).

У випадку ГМ кишечника, як і на препаратах шлунку, нано-ZnO спричиняв суттєву зміну спонтанної скорочувальної активності (Рис. 3.7, 3.8 і 3.9).



**Рис. 3.7.** Спонтанна скорочувальна активність *caecum* щурів у контролі (А) та за умов навантаження організму упродовж 30, 100 та 180 діб водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу) (відповідно Б, В і Г). Наведено типові механограми.

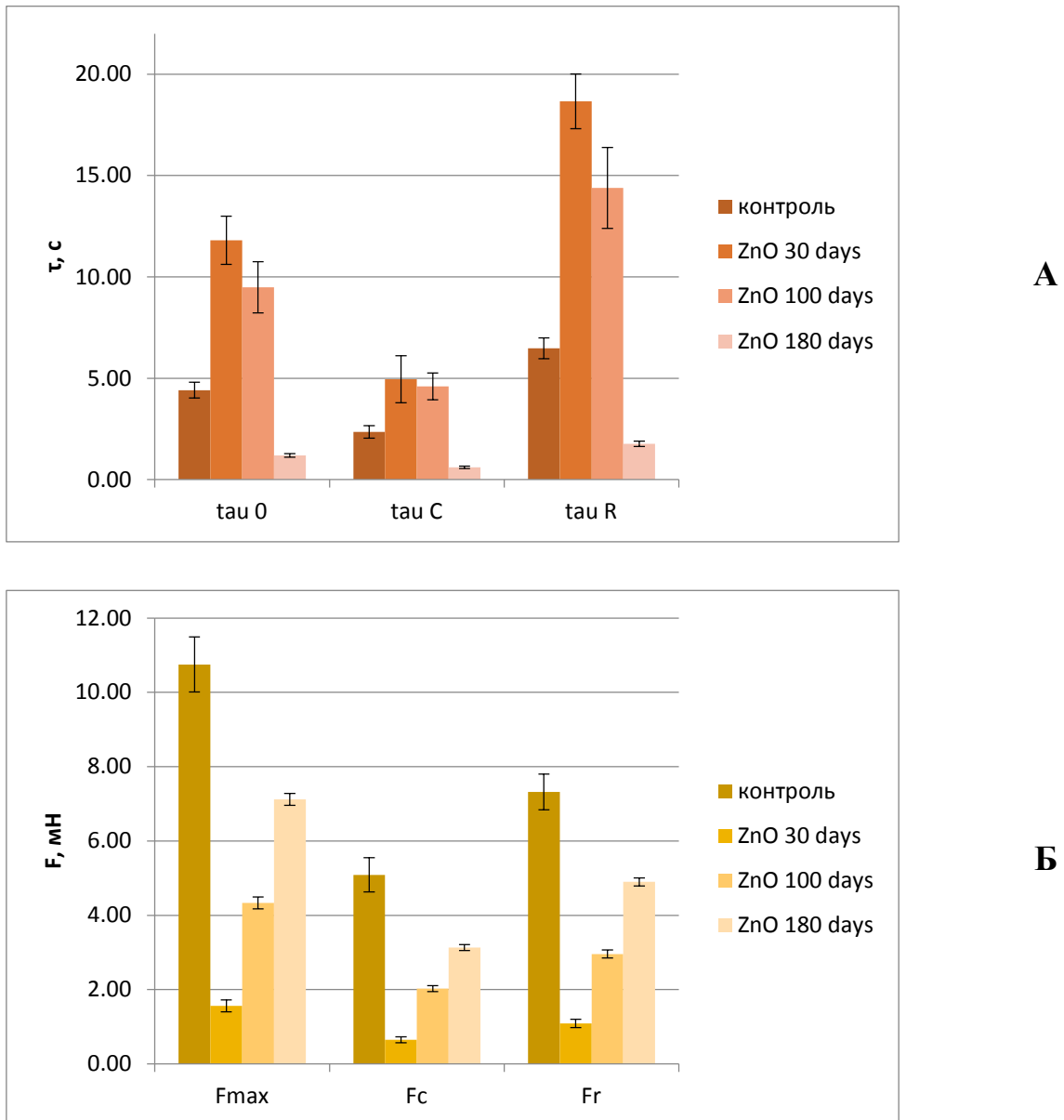
Аналогічно до ГМ *antrum*, скорочувальна активність *caecum* щурів які упродовж 30 діб вживали ZnO характеризувалась драматичним зниженням і амплітуди, і частоти спонтанних скорочень у середньому на 80-85 % щодо

контролю. У випадку хронічного застосування суспензії нано-ZnO спостерігалось часо-залежне зростання частоти скорочень у понад три рази, а також тенденції до відновлення амплітуди.

Патерн ритмоактивності товстого кишечника у контролі мав 2 типи скорочень: низькоамплітудні високочастотні і високоамплітудні низькочастотні скорочення. У випадку дії наноматеріалу ZnO упродовж 100 діб зростала частота і не змінювалася амплітуда низькоамплітудних скорочень, а також не змінювалася частота і знижувалася амплітуда високоамплітудних скорочень (Рис. 3.7). За тривалості дії наноматеріалу ZnO упродовж 180 діб надалі (порівняно з даними 100 діб) зростала частота низькоамплітудних скорочень, а також суттєво збільшувалась частота високоамплітудних скорочень.

Ми можемо передбачати клітинні механізми, за якими реалізується ефект хронічного надходження в організм нанорозмірного ZnO на ГМ товстого кишечника. Як відомо, кільцеві ГМ товстого кишечника містять добре розвинені мережі ICC: ICC-SM (розташовані вздовж підслизової поверхні кільцевого шару ГМ у Мейснеровому сплетенні) та ICC-MY (між кільцевими і поздовжніми ГМ в Ауербаховому сплетенні). Кожний тип ICC незалежно генерує власний патерн активності: ICC-MY – низькоамплітудні високочастотні скорочення (10-15 ск/хв) та ICC-SM – високоамплітудні низькочастотні (0,5-1,5 скорочень за хвилину) [25-27]. Тож є усі підстави передбачити, що хронічне надходження в організм нано-ZnO значно змінює патерн генерування спонтанної активності обома типами ICC (ICC-MY і ICC-SM).

Важливо відзначити, що своїми властивостями ГМ товстого кишечника щурів подібні до м'язів кишечника людини, тож вивчення механокінетичних ефектів хронічної дії суспензії нано-ZnO на моделі щурів можуть бути використані для передбачення змін моторики товстого кишечника людини.



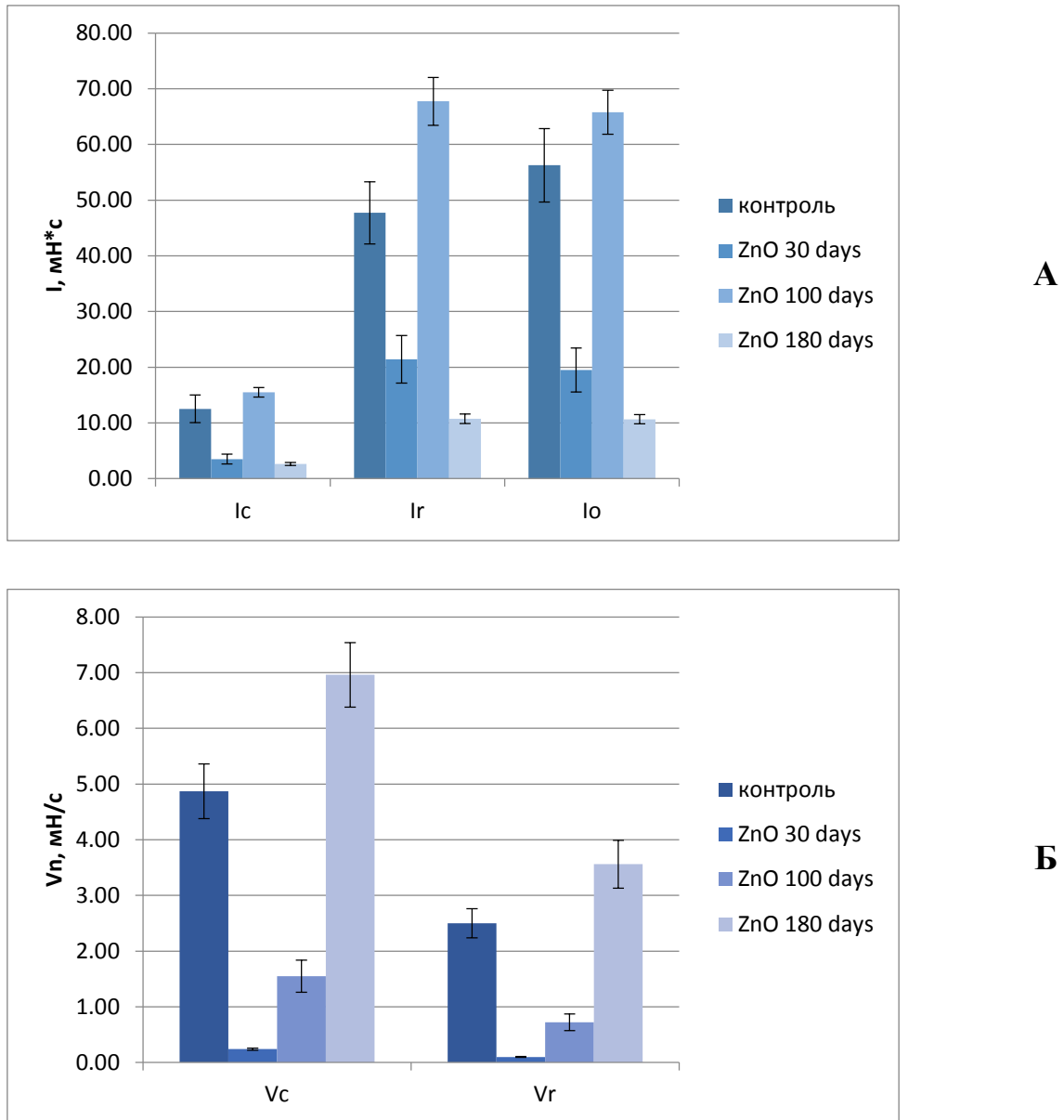
**Рис. 3.8.** Параметри спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів *саесит* у контролі та навантаження щурів упродовж 30, 100 та 180 діб водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу):

А – часові параметри ( $\tau_0$ ,  $\tau_C$  і  $\tau_R$ );

Б – силові параметри ( $F_{\max}$ ,  $F_C$  та  $F_R$ );

За 100% прийнято відповідні показники спонтанної активності в контролі (n=6, \* -  $p < 0.05$ , \*\* -  $p < 0.01$  та \*\*\* -  $p < 0.001$  – достовірно щодо контролю).

Також надалі було встановлено, що за дії нанорозмірного ZnO суттєво і різнострямовано змінювалися механокінетичні параметри окремих скорочень *saesit* (Рис. 3.8 і 3.9).



**Рис. 3.9.** Параметри спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів *saesit* у контролі та за навантаження щурів упродовж 30, 100 та 180 діб водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу):

А – імпульсні параметри ( $I_{\max}$ ,  $I_C$  та  $I_R$ );

Б – швидкісні параметри ( $V_C$  і  $V_R$ ).

За 100% прийнято відповідні показники спонтанної активності в контролі

( $n=6$ , \* -  $p<0.05$  та \*\*\* -  $p<0.001$  – різниця достовірна щодо контролю).

Так, у всіх випадках нано-ZnO спричиняв суттєве пригнічення силових параметрів (Рис. 3.8 Б), однак зі збільшенням тривалості експозиції цього наноматеріалу мало місце відносне підвищення значень  $F_{\max}$ ,  $F_C$  та  $F_R$ . Аналогічні часові тенденції були характерні для швидкісних параметрів ( $V_C$  і  $V_R$ ): спостерігалось їх поступове відновлення: від практично повного пригнічення (у середньому на 95 %) у випадку 30 діб дії ZnO від помірного збільшення (у середньому на 40 %) у випадку 180 діб дії цього наноматеріалу. У випадку ж імпульсних ( $I_{\max}$ ,  $I_C$  та  $I_R$ ) і часових ( $\tau_0$ ,  $\tau_C$  і  $\tau_R$ ) параметрів певний характер тенденцій змін був відсутній (Рис. 3.8 А і 3.9 А).

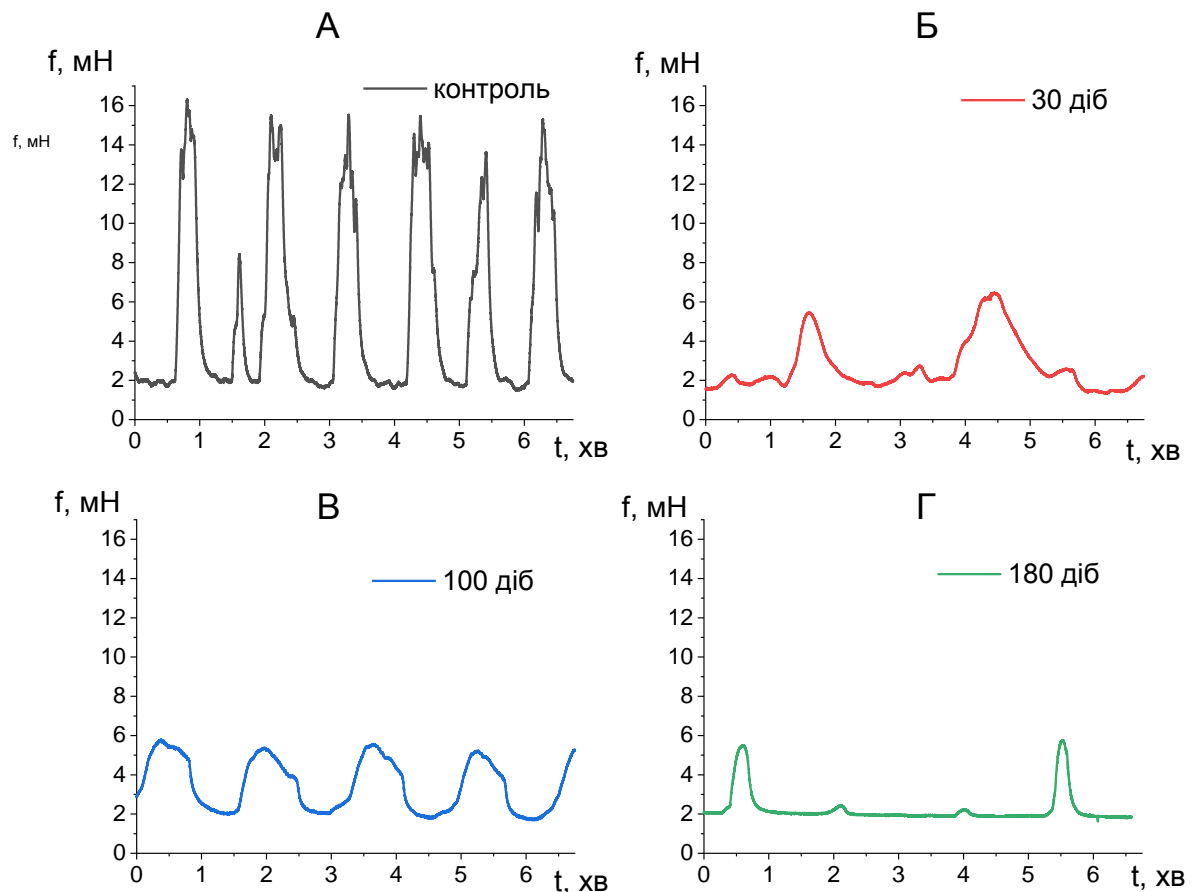
Тож субхронічне (упродовж 30 діб) надходження наночастинок в організм щурів супроводжувалося суттєвим (до 15-50 % щодо контролю) зниженням силових ( $F_{\max}$ ,  $F_C$  та  $F_R$ ), імпульсних ( $I_{\max}$ ,  $I_C$  та  $I_R$ ) та швидкісних параметрів ( $V_C$  і  $V_R$ ), а також достовірним збільшенням показників характеристичного часу ( $\tau_0$ ,  $\tau_C$  і  $\tau_R$ ). У випадку ж хронічного (упродовж 100 і 180 діб) навантаження організму щурів нано-ZnO зміни механокінетичних параметрів скорочень загалом вказують на адаптаційне корегування моторної функції товстого кишечника.

### 3.3. Спонтанна скорочувальна активність міометрія щурів за субхронічної і хронічної дії суспензії нанорозмірного ZnO

Надалі було досліджено ефекти навантаження щурів водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу) упродовж різних періодів часу (30, 100 та 180 діб) на спонтанну скорочувальну активність поздовжніх ГМ маткових труб. На відміну від тіла матки, де кожний міозит має здатність до пейсмейкерної активності, маткові труби містять ділянки з джерелами спонтанної активності в цервікальному і оваріальному відділах. Як показано

дослідженнями К.В. Казаряна і колег [40-41], саме оваріальний відділ є головним джерелом ритму в маткових трубах, забезпечуючи явище спрямованої перистальтики.

Як і на препаратах ГМ травного тракту, у випадку міометрія нано-ZnO спричиняв суттєву зміну спонтанної скорочувальної активності (Рис. 3.10, 3.11 і 3.12).



**Рис. 3.10.** Спонтанна скорочувальна активність міометрія щурів у контролі (А) та за умов навантаження організму упродовж 30, 100 та 180 діб водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу) (відповідно Б, В і Г). Наведено типові механограми.

В умовах різної тривалості навантаження тварин суспензією нано-ZnO спостерігалися односпрямовані зміни амплітуди і частоти спонтанної скорочувальної активності міометрія – (Рис.3.10).

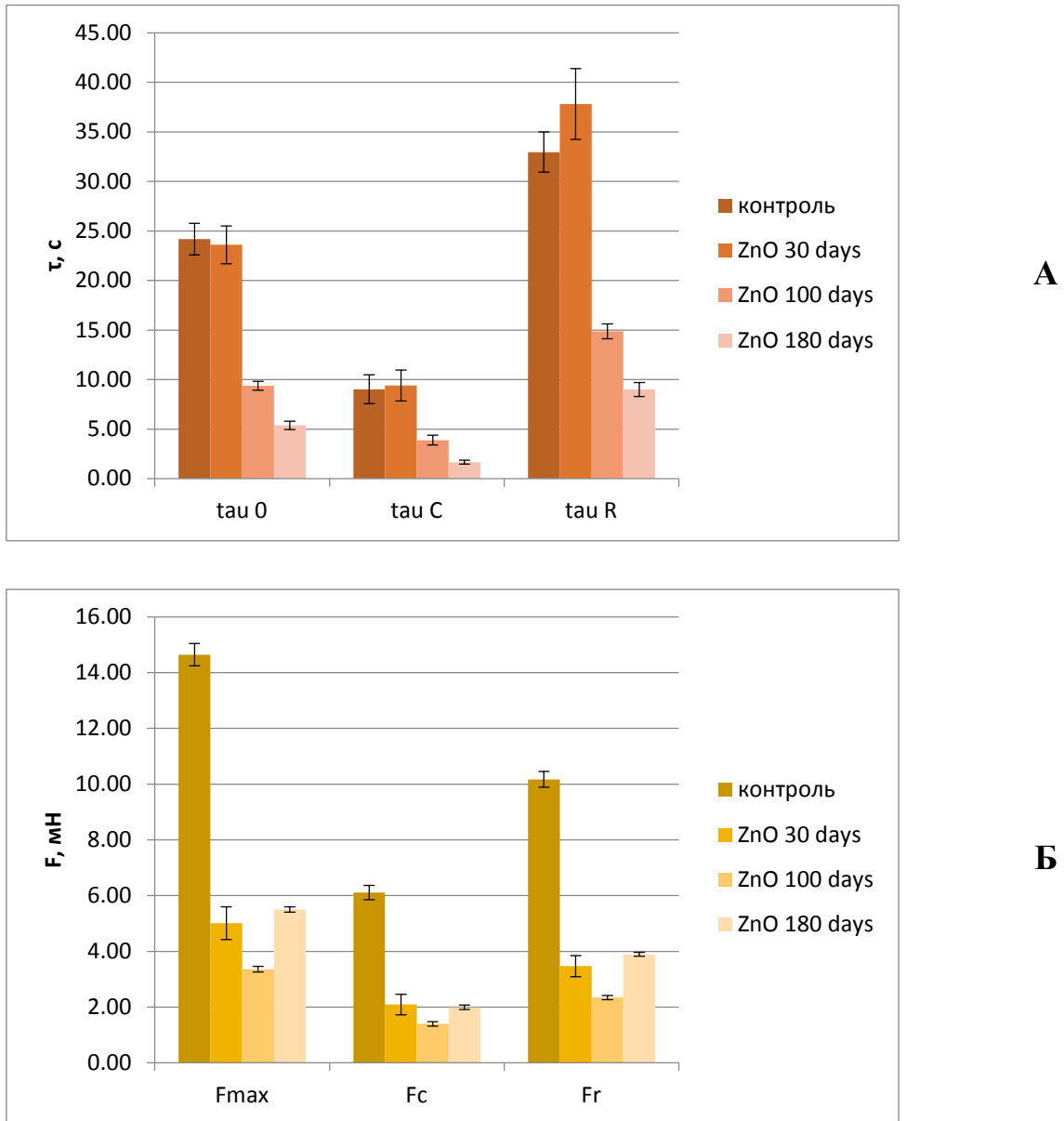
Молекулярні механізми активації пейсмейкерних струмів у міоцитах матки натепер з'ясовані не в повній мірі, хоча загальні закономірності етапів спряження збудження-скорочення в цих м'язах відомі. На відміну від пейсмейкерного механізму в ГМ стінок травного тракту, джерелом генерації повільних хвиль деполяризації у міометрії є робочі міоцити, але модулюючий вплив на їх частоту здійснюють регуляторні клітини, зокрема m-ICLC [51,52]. Тож, ймовірно, що суттєве модулювання частоти спонтанних скорочень міометрія нано-ZnO може бути обумовлено дією цих наноматеріалів на клітини m-ICLC.

Клітинні механізми формування амплітуди спонтанних скорочень міометрія пов'язані головню з активацією потенціал-залежного надходження іонів  $Ca^{2+}$  через потенціалкерівані  $Ca^{2+}$ -канали L-типу до ГМК, а також до деякої міри до них роблять внесок процеси вивільнення  $Ca^{2+}$  з внутрішньоклітинних депо запасання цих катіонів, а також сенситизація протеїнів скорочувального апарату до  $Ca^{2+}$ . Клітини міометрія тісно поєднані між собою метаболічно та електрично за допомогою щільних контактів, через які вільно проходять іони і сигнальні молекули, зокрема інозитол-1,4,5-трифосфат [54].

Також на сьогоднішній день відомі токсичні властивості нанорозмірного матеріалу ZnO: значна активація процесів продукування АФК та індукція ними руйнування клітин; в силу часткового розчинення ZnO - вивільнення цитотоксичних іонів  $Zn^{2+}$ , які модулюють провідності іонних каналів (зокрема і блокують потенціалкерівані  $Ca^{2+}$ -канали L-типу), а також інгібують процеси клітинного метаболізму за рахунок пригнічення активностей багатьох ензимів [41-45, 54, 55].

Надалі було окремі спонтанні скорочення міометрія були проаналізовані методом багатопараметричного аналізу [31]. Показано, що за

даних умов переважно відбувається зниження значень механокінетичних параметрів (Рис. 3.11 і 3.12).



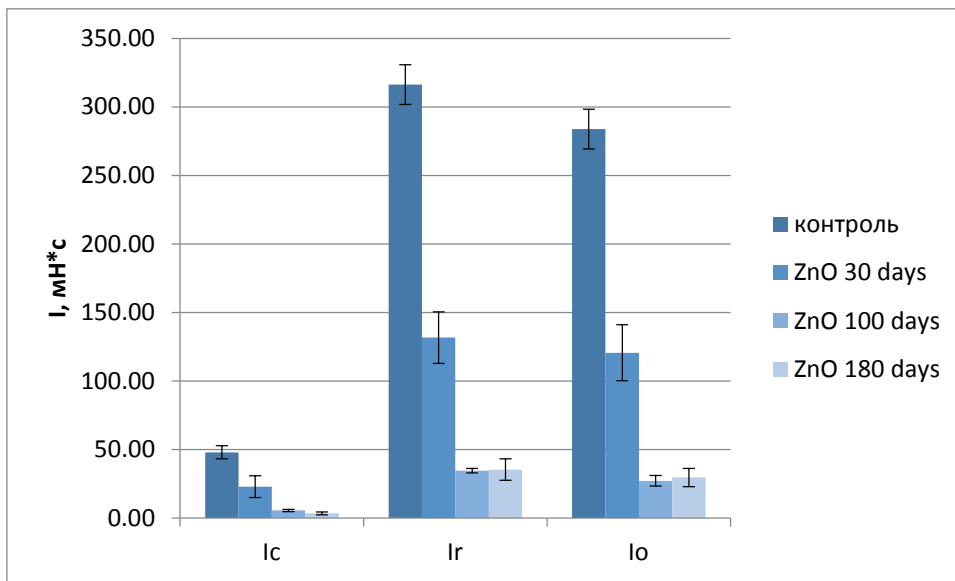
**Рис. 3.11.** Параметри спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів *saesit* у контролі та навантаження щурів упродовж 30, 100 та 180 діб водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу):

А – часові параметри ( $\tau_0$ ,  $\tau_C$  і  $\tau_R$ );

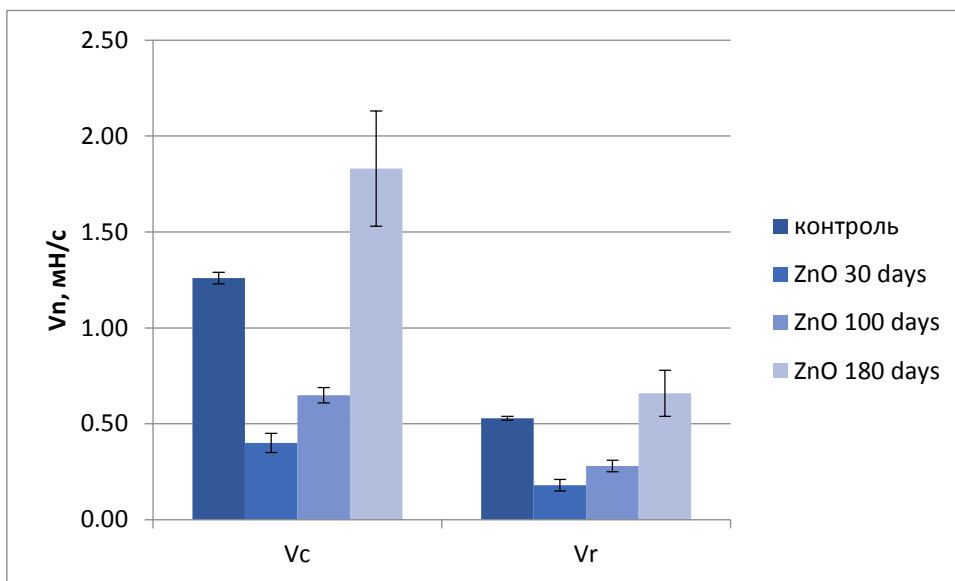
Б – силові параметри ( $F_{max}$ ,  $F_C$  та  $F_R$ );

За 100% прийнято відповідні показники спонтанної активності в контролі

(n=6, \* -  $p < 0.05$ , \*\* -  $p < 0.01$  та \*\*\* -  $p < 0.001$  – достовірно щодо контролю).



**А**



**Б**

**Рис. 3.12.** Параметри спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів *saecum* у контролі та за навантаження щурів упродовж 30, 100 та 180 діб водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу):

А – імпульсні параметри ( $I_{max}$ ,  $I_C$  та  $I_R$ );

Б – швидкісні параметри ( $V_C$  і  $V_R$ ).

За 100% прийнято відповідні показники спонтанної активності в контролі

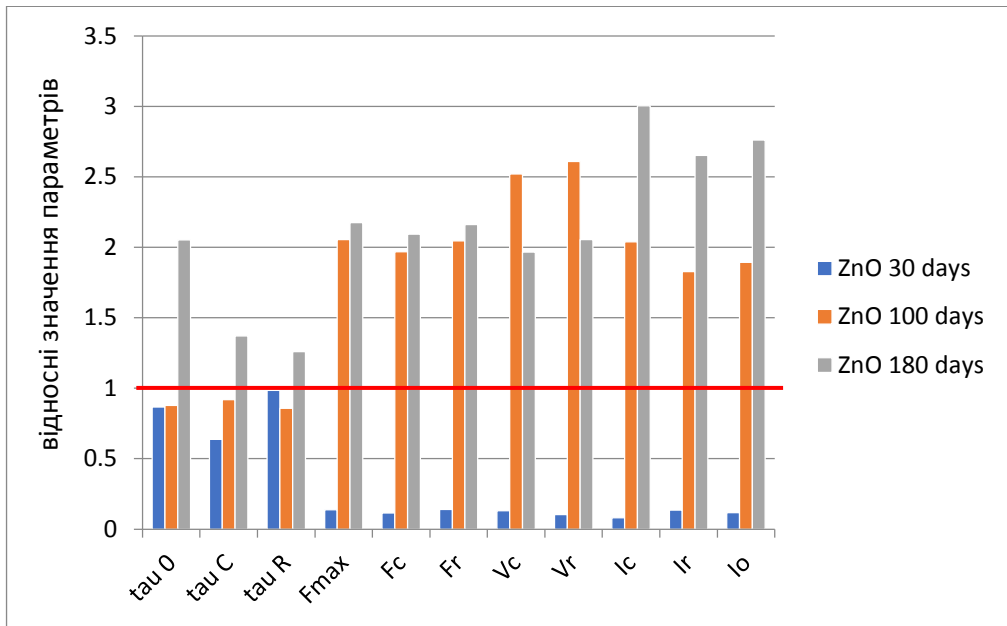
(n=6, \* -  $p < 0.05$  та \*\*\* -  $p < 0.001$  – різниця достовірна щодо контролю).

Так, у всіх випадках нано-ZnO спричиняв суттєве пригнічення силових параметрів (Рис. 3.8 Б), але для нього не мало місце часо-залежності. У випадку часових ( $\tau_0$ ,  $\tau_C$  і  $\tau_R$ ) параметрів за субхронічної дії нано-ZnO статистично зачущих ефектів не спостерігалось, але за хронічного застосування ці параметри часо-залежно зменшувалися. У випадку швидкісних параметрів ( $V_C$  і  $V_R$ ) виявлялася зворотна залежність змін: максимальне зменшення швидкостей за субхронічної дії та їх поступове відновлення зі збільшенням тривалості експозиції наноматеріалу. Також у всіх випадках нано-ZnO зменшував значення імпульсних ( $I_{max}$ ,  $I_C$  та  $I_R$ ) параметрів, а найбільш значне їх пригнічення мало за хронічної дії наночастинок (Рис. 3.12 А).

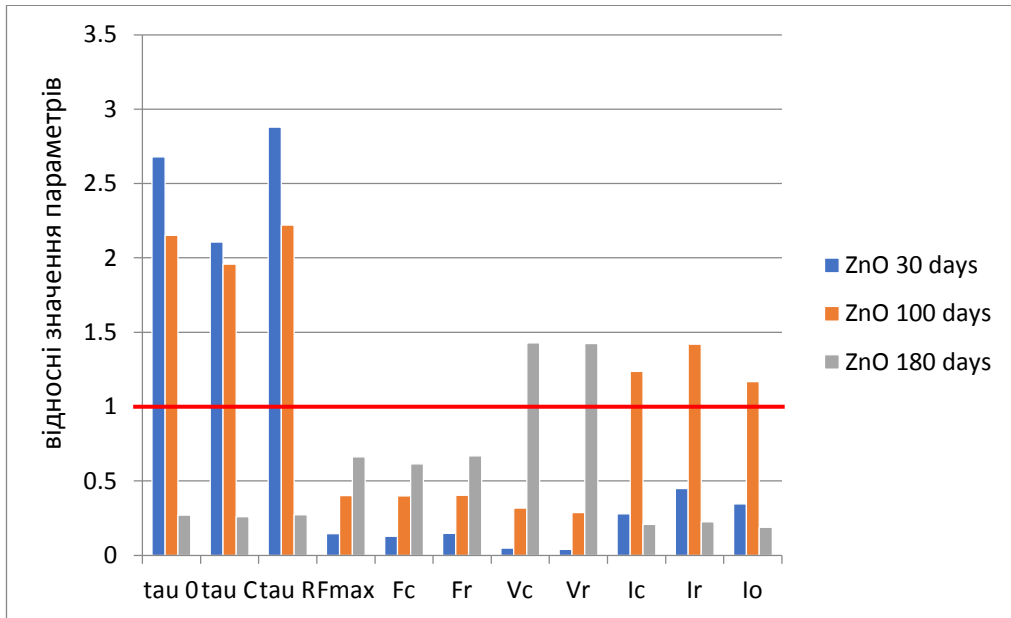
Отже, надходження суспензії наночастинок ZnO в організм щурів призводить загалом до прогресуючого пригнічення спонтанної скорочувальної активності міометрія.

#### **3.4. Відносні зміни механокінетичних параметрів спонтанних скорочень вісцеральних гладеньких м'язів щурів за субхронічної і хронічної дії суспензії нанорозмірного ZnO**

Для кращого розуміння субхронічної і хронічної дії *in vivo* суспензії нанорозмірного ZnO на цикл скорочення-розслаблення було розраховано відносні механокінетичні параметри (Рис. 3.13 і 3.14) [19].

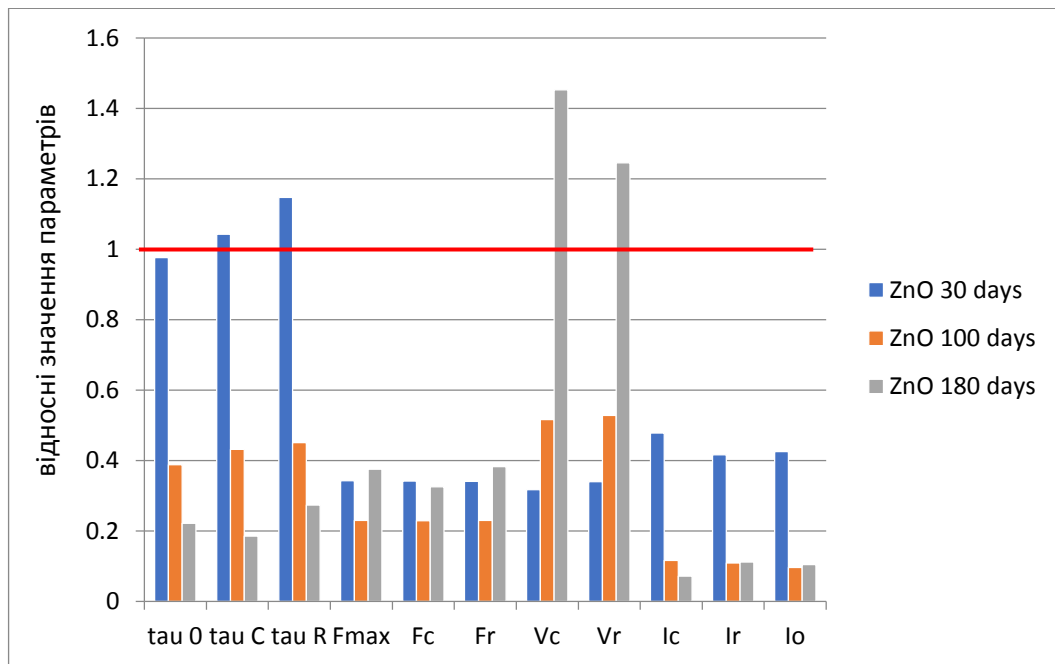


**A**



**B**

**Рис. 3.13.** Усереднені відносні механокінетичні параметри скорочення-розслаблення кільцевих гладеньких м'язів шлунку (А) і товстого кишечника (Б) за навантаження щурів упродовж 30, 100 та 180 діб водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу).



**Рис. 3.14.** Усереднені відносні механокінетичні параметри скорочення-розслаблення поздовжніх гладеньких м'язів рогів матки за навантаження щурів упродовж 30, 100 та 180 діб водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу).

Загалом, результати багатofакторного механокінетичного аналізу процесів скорочення-розслаблення вісцеральних ГМ за навантаження організму щурів упродовж 30, 100 та 180 діб водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу) вказують на те, що субхронічна дія наноматеріалу (30 діб) спричиняє суттєві перебудови фазної скорочувальної активності всіх досліджених ГМ. Надалі зі збільшенням терміну навантаження щурів нанорозмірним оксидом цинку в усіх без виключення дослідах на ГМ *antrum*, *caecum* і міометрія загалом спостерігається адаптація скорочувальної активності та відновлення ефективності функціонування ГМ.

## ВИСНОВКИ

1. Тензометричним методом в ізометричному режимі досліджено спонтанну скорочувальну активність ізольованих кільцевих гладеньких м'язів *antrum* і *caecum* і поздовжніх гладеньких м'язів рогів матки щурів за субхронічного (30 діб) і хронічного (100 і 180 діб) навантаження *in vivo* водною суспензією нанорозмірного ZnO (3 мг/кг/добу).

2. Встановлено, що за дії ZnO упродовж 30 діб спостерігається суттєве пригнічення амплітуди спонтанних скорочень на тлі збільшення їх частоти. За хронічної дії цього наноматеріалу упродовж 100 і 180 діб і частота спонтанних скорочень ГМ *antrum*, і їх амплітуда суттєво збільшувались щодо контролю, що вказує на його здатність модулювати механізми пейсмеркерної активності у тканині гладеньких м'язів та, ймовірно посилювати надходження іонів  $Ca^{2+}$  до міоцитів.

3. Показано, що скорочувальна активність *caecum* щурів, які упродовж 30 діб вживали ZnO, характеризувалась зниженням амплітуди і частоти спонтанних скорочень у середньому на 80-85 % щодо контролю. У випадку хронічного застосування суспензії нано-ZnO спостерігалось часо-залежне зростання частоти скорочень у понад три рази, а також тенденції до відновлення амплітуди. Такі ефекти вказують на модуляцію функціонування робочих і пейсмеркерних клітин в тканині гладеньких м'язів під дією нанорозмірного ZnO.

4. Виявлено, що надходження *in vivo* суспензії наночастинок ZnO в організм щурів супроводжується прогресуючим пригніченням спонтанної скорочувальної активності міометрія, ймовірно за рахунок дії наноматеріалу на робочі та регуляторні клітини.

5. За використання методу багатопараметричного механокінетичного аналізу показано, що за дії субхронічної і хронічної дії *in vivo* нанорозмірного ZnO суттєво змінюються силові ( $F_{max}$ ,  $F_C$  та  $F_R$ ),

часові ( $\tau_0$ ,  $\tau_C$  і  $\tau_R$ ), імпульсні ( $I_{\max}$ ,  $I_C$  та  $I_R$ ) та швидкісні параметри ( $V_C$  і  $V_R$ ), що дозволяє передбачити порушення як процесів надходження, так і екструзії іонів  $Ca^{2+}$  в робочих міоцитах під час спонтанної скорочувальної активності.

6. Встановлено, що зі збільшенням терміну навантаження організму щурів нанорозмірним ZnO спостерігається адаптація скорочувальної активності та відновлення ефективності функціонування вісцеральних гладеньких м'язів.

### Список використаних джерел

1. Андриевский Р.А., Рагуля А.В. Наноструктурированные. — М., 2005; Гусев А.И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. — М., 2007; Gao B., Arya G., Tao A.R. Self-orienting nanocubes for the assembly of plasmonic nanojunctions // *Nat. Nanotechnol.* — 2012. — Vol. 7, № 7; Lee J.O., Song Y.-H., Kim
2. De Vringer and De Ronde 1995; Dingler et al 1998; Lippacher et al 2002; Münster et al 2005
3. Shang L , Nienhaus K , Nienhaus GU. Engineered nanoparticles interacting with cells: size matters.// *J. Nanobiotechnology.* – 2014. – Feb 3;12:5. doi: 10.1186/1477-3155-12-5.
4. Трофимова С. А. Методологические подходы к оценке биологического действия наноматериалов // *Journal of Biomedical Technologies.* – 2015. – № 1. – С. 38–44. DOI: 10.15393/j6.art.2015.3283 .
5. Леоненко Н.С., Демецька О.В., Леоненко О.Б. Особливості фізико-хімічних властивостей та токсичної дії наноматеріалів – до проблеми оцінки небезпечного впливу їх на живі організми (огляд літератури) // *Сучасні проблеми токсикології.* -2016.- 14.- С. 64-76.
6. Yang et al 1999a; Wissing et al 2004
7. Yang et al 1999b; Pandey et al 2005
8. Sznitowska et al 2001
9. Cavalli et al 2002; Friedrich et al 2005
10. R.K. Shukla, A. Srivastava, A. Srivastava, K.C. Dubey, *J. Cryst. Growth.* 294, 427(2006).
11. N. Bouhssira, S. Abed, E. Tomasella, *Appl. Surf. Sci.* 252, 5594 (2006).
12. <https://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=3348>
13. Baek YW, An YJ (2011) Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*. *Sci Total Environ* 409:1603–1608

14. Универсальный атлас. Биология. В 3-х кн. Книга 1/Г. Л. Билич, В.А. Крыжановский – М:Издательский дом «ОНИКС 21век »,2005. - 1008с.:ил.
15. <https://www.britannica.com/science/stomach>
16. Vdoviaková, K., Petrovová, E., Maloveská, M., Krešáková, L., Teleky, J., Elias, M. Z. J., & Petrášová, D. (2016). Surgical Anatomy of the Gastrointestinal Tract and Its Vasculature in the Laboratory Rat. *Gastroenterology Research and Practice*, 2016, 1–11. doi:10.1155/2016/2632368
17. <https://www.interspeciesinfo.com/organs-and-species/organ-information/large-intestine>
18. Zhou YM, Zhong CY, Kennedy IM, Leppert VJ, Pinkerton KE (2003) Oxidative stress and NFκB activation in the lungs of rats: a synergistic interaction between soot and iron particles. *Toxicol Appl Pharmacol* 190:157–169
19. Yang H, Liu C, Yang D, Zhang H, Xi Z (2009) Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. *J Appl Toxicol* 29:69–78
20. Exintaris B, Klemm MF, Lang RJ. Spontaneous slow wave and contractile activity of the guinea pig prostate. PMID: 12050563
21. Camborova P., Hubka P., Sulkova I., Hulin I. The Pacemaker Activity of Interstitial Cells of Cajal and Gastric Electrical Actyvity // *Physiol.Res.* — 2003. — V. 52. — I. 3. — P. 275–284
22. Quigley E. M. M Review article: gastric emptying in functional gastrointestinal disorders. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2004; 20 (Suppl. 7): 56–60.
23. Moreno-Olivas F., Tako E., Mahler G. J. ZnO nanoparticles affect intestinal function in an in vitro model. *Food Funct.* 2018; 9(3): 1475-1491.
24. Missaoui W.N., Arnold R.D., Cummings B.S. Toxicological status of nanoparticles: What we know and what we don't know. *Chem Biol Interact.* 2018; 295: 1-12.

25. Wang Y, Chen Z, Ba T, Pu J, Chen T, Song Y, Gu Y, Qian Q, Xu Y, Xiang K, Wang H, Jia G. Susceptibility of young and adult rats to the oral toxicity of titanium dioxide nanoparticles. *Small*. 2013 May 27;9(9-10):1742-52.
26. Gupta R., Xie H. Nanoparticles in Daily Life: Applications, Toxicity and Regulations. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 2018; 37(3): 209-230.
27. Hou J., Wang L., Wang C., Zhang S., Liu H., Li S., Wang X. Toxicity and mechanisms of action of titanium dioxide nanoparticles in living organisms. *J Environ Sci (China)*. 2019 Jan;75: 40-53.
28. Kumar V., Kumari A., Guleria P., Yadav S.K. Evaluating the toxicity of selected types of nanochemicals. *Rev Environ Contam Toxicol*. 2012; 215: 39-121.
29. Liu Y.A., Chung Y.C., Shen M.Y., Pan S.T., Kuo C.W., Peng S.J., Pasricha P.J, Tang S.C. Perivascular Interstitial Cells of Cajal in Human Colon. *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol*. 2014; 1(1):102-119.
30. Pieri L., Vannucchi M.G., Fausone-Pellegrini M.S. Histochemical and ultrastructural characteristics of an interstitial cell type different from ICC and resident in the muscle coat of human gut. *J. Cell Mol. Med*. 2008; 12(5B): 1944-1955.
31. Kurahashi M., Zheng H., Dwyer L., Ward S.M., Koh S.D., Sanders K.M. A functional role for the 'fibroblast-like cells' in gastrointestinal smooth muscles. *J Physiol*. 2011; 589 (Pt 3): 697-710.
32. Roatesi I., Radu B.M., Cretoiu D., Cretoiu S.M. Uterine Telocytes: A Review of Current Knowledge. *Biol Reprod*. 2015; 93(1): 10. doi: 10.1095/biolreprod.114.125906.
33. Aleksandrovykh V., Walocha J.A., Gil K. Telocytes in female reproductive system (human and animal). *J Cell Mol Med*. 2016; 20(6): 994-1000. doi: 10.1111/jcmm.12843.
34. Domino M., Pawlinski B., Zabielski R., Gajewski Z. C-kit receptor immunopositive interstitial cells (Cajal-type) in the porcine reproductive tract. *Acta Vet Scand*. 2017; 59(1): 32. doi: 10.1186/s13028-017-0300-5.
35. Sanders K.M., Ward S.M., Koh S.D. Interstitial Cells: Regulators of Smooth Muscle Function. *Physiol. Rev*. 2014; 94(3): 859–907.
36. Ward S. M., Ordog T., Koh S. D., Baker S. A., Jun Y. T., Amberg G., Monaghan K., Sanders K. M. Pacemaking in interstitial cells of Cajal depends upon calcium handling by endoplasmic reticulum and mitochondria. *J Physiol*. 2000; 527(2): 149-162.
37. Beckett E. A. H., Bauguinov V. R., Sanders K. M., Ward S. M., Hirst G. D. Properties of unitary potentials generated by intramuscular interstitial cells

- of Cajal in the murine and guinea-pig gastric fundus. *J Physiol.* 2004; 559(Pt 1): 259–269.
38. Berridge M.J. Smooth muscle cell calcium activation mechanisms. *J. Physiol.* 2008; 586 (Pt 21): 5047–5061.
39. Koh S.D., Ward S.M., Sanders K.M. Ionic conductances regulating the excitability of colonic smooth muscles. *Neurogastroenterol. Motil.* 2012; 24(8): 705–718.
40. Tsymbalyuk O., Kosterin S. Mechanokinetics and thermodynamics of highly elastic deformation of gastric smooth muscles under chronic intake of TiO<sub>2</sub> nanocolloid. *Series on Biomechanics*, 2021, 35 (4): 3-20.
41. Wang X., Song J., Wang Z.L. Nanowire and nanobelt arrays of zinc oxide from synthesis to properties and to novel devices. *J. Mater. Chem.* 2007; 17: 711-720.
42. EL-Mekki D. M., Selim M. M., Hamdi N., Hassan S. A., Ezzat A. Studies on the influence of the physicochemical characteristics of nanostructured copper, zinc and magnesium oxides on their antibacterial activities. *Journal of Environmental Chemical Engineering.* 2018; 6(4): 5608-5615.
43. Neumaier F, Alpdogan S, Hescheler J, Schneider T. Zn<sup>2+</sup>-induced changes in Cav2.3 channel function: An electrophysiological and modeling study. *J Gen Physiol.* 2020 Sep 7;152(9):e202012585.
44. Sun HS, Hui K, Lee DW, Feng ZP. Zn<sup>2+</sup> sensitivity of high- and low-voltage activated calcium channels. *Biophys J.* 2007 Aug 15;93(4):1175-83.
45. Noh S, Lee SR, Jeong YJ, Ko KS, Rhee BD, Kim N, Han J. The direct modulatory activity of zinc toward ion channels. *Integr Med Res.* 2015 Sep;4(3):142-146.
46. Means S.A., Sneyd J. Spatio-temporal calcium dynamics in pacemaking units of the interstitial cells of Cajal. *J.Theor. Biol.* 2010; 267(2): 137-152.
47. Pluja L., Alberti E., Fernandez E., Mikkelsen H.B., Thuneberg L., Jimenez M. Evidence supporting presence of two pacemakers in rat colon. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.*, 2001; 281.: G255–G266.
48. Yoneda S., Kadowaki M., Sugimori S., Sekiguchi F., Sunano S., Fukui H., Takaki M. Rhythmic spontaneous contractions in the rat proximal colon. *Jpn J Physiol.* 2001; 51(6): 717-723.
49. Казарян К.В., Унанян Н.Г., Мкртчян А.В. Взаимодействие пейсмекерных активностей крайних отделов маточных труб у небеременных крыс. *Доклады НАН Армении.* 2014; 114 (1): 69-75.
50. Казарян К.В., Унанян Н.Г., Меликсантян И.Б., Акопян Р.Р., Саваян А.А. Роль окситоцина в активации спонтанной электрической

- активности тела и рогов матки у небеременных крыс. *Цитология*, 2010; 52 (12): 990-996.
51. Казарян К.В., Пилипосян Т.А. Овариальная область миометрия и ее роль в регуляции спонтанной электрической активности. *Медицинская наука Армении НАН РА*. 2016; LVI (2): С. 46-54.
52. Young R.C. Myocytes, Myometrium, and Uterine Contractions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2007; 1101: 72–84. doi: 10.1196/annals.1389.038
53. Roatesi I., Radu B.M., Cretoiu D., Cretoiu S.M. Uterine Telocytes: A Review of Current Knowledge. *Biol Reprod.* 2015; 93(1): 10. doi: 10.1095/biolreprod.114.125906
54. Donnadio A., Cardinalli G., Latterini L., Roscini L., Ambrogi V. Nanostructured zinc oxide on silica surface: Preparation, physicochemical characterization and antimicrobial activity. *Materials Science and Engineering: C*. 2019; 104.
55. Pulit-Prociak J., Chwastowski J., Rodrigues L.B., Banach M. Analysis of the physicochemical properties of antimicrobial compositions with zinc oxide nanoparticles. *Sci Technol Adv Mater.* 2019; 20(1): 1150-1163.