

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

Завідувач кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики
доцент Олексій Юрійович Нипорко
Протокол № ____ засідання кафедри
від « ____ » _____ 20 ____ р.

**ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАКОНОМІРНОСТЕЙ І МЕХАНІЗМІВ
ВПЛИВУ ОРГАНІЧНИХ НАНОКОМПОЗИТІВ З Gd³⁺ НА
СКОРОЧУВАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ
ТРАВНОГО ТРАКТУ**

Випускна кваліфікаційна робота бакалавра
студентки спеціальності 091 Біологія
ОП « Біологія (високі технології) »
Панченко Альони Іванівни

Науковий керівник:
професор кафедри молекулярної
біотехнології та біоінформатики
д.б.н. **Цимбалюк Ольга Володимирівна**

Оцінка захисту роботи

Київ – 2024 р.

Зміст

Зміст.....	1
Анотація.....	2
Перелік умовних позначень і скорочень.....	3
Вступ.....	4
Розділ 1. Гладенькі м'язи шлунково-кишкового тракту, як базова модельна система дослідження.....	6
1.1. Фізіологічні та функціональні особливості гладеньких м'язів шлунково-кишкового тракту.....	6
1.2. Огляд загальних механізмів активності гладеньких м'язів.....	6
Розділ 2. Наночастинки гадолінію. Характеристика та використання.....	9
2.1. Загальні властивості наночастинок і їх застосування у медицині.....	9
2.2. Властивості наночастинок гадолінію. Їх застосування в діагностиці та терапії.....	9
2.3. Фактори ризику. Вплив наночастинок гадолінію на гладенькі м'язи...	10
Розділ 3. Висока відтворюваність експериментальних даних. Модельні системи та методи проведення.....	11
3.1. Використання щурів в якості модельної системи для досліджень.....	11
3.2. Загальна методологія експерименту.....	11
3.3. Особливості використання наночастинок гадолінію у дослідженні скоротливої активності гладеньких м'язів.....	13
3.4. Модуляція для покращення біосумісності і зниження цитотоксичності.....	15
3.4.1. Функціоналізація поверхні наночастинок.....	15
3.4.2. Оцінка цитотоксичності функціоналізованих наночастинок.....	16
3.4.3. Оптимізація функціоналізації.....	17
3.4.4. Валідація та використання.....	17
3.5. Використання кінетичних моделей і програмного забезпечення.....	17
Розділ 4. Результати та обговорення.....	20
4.1. Спонтанна скорочувальна активність шлунку за дії органічних наноконструкцій з Gd^{3+}	20
4.2. Спонтанна скорочувальна активність товстого кишечника за дії органічних наноконструкцій з Gd^{3+}	27
4.3. Карбахолін-індуковані скорочення шлунку і товстого кишечника щурів за дії органічних наноконструкцій Gd-NC і NC.....	33
Висновки.....	36
Список джерел.....	37

Анотація

Панченко А. І. Дослідження закономірностей і механізмів впливу органічних нанокompatитів з Gd^{3+} на скорочувальну активність гладеньких м'язів травного тракту. – Випускна кваліфікаційна робота бакалавра за спеціальністю 091 Біологія ОП « Біологія (високі технології) »

В рамках дослідження було проведено серію експериментів, які дозволили вивчити вплив різних концентрацій нанокompatитів на м'язову активність. Отримані результати показують, що нанокompatити з Gd^{3+} можуть модулювати скорочувальну активність гладеньких м'язів, впливаючи на різні механізми клітинної регуляції. Виявлені закономірності мають важливе значення для подальшого розуміння фізіологічних процесів у травному тракті та можуть сприяти розробці нових підходів до лікування захворювань, пов'язаних з порушеннями моторики кишечника, а також можуть бути використані для оптимізації використання НС у різних галузях, зокрема у фармакології, діагностичній медицині, нанобіотехнологіях та підвищити безпеку їх застосування загалом.

Ключові слова: гладенькі м'язи, магнітно-резонансна томографія, гадоліній, цитотоксичність, біосумісність, механокінетичний аналіз, карбахолін-індуковані скорочення.

Перелік умовних позначень і скорочень

NC – нанокомпозити

Gd-NC – нанокомпозити гадолінію 3+

ICC – інтерстиціальних клітин Кахаля

τ_C, τ_R – характеристичний час у разі механокінетичної кривої у точках її перегину відповідно на рівні фаз скорочення та розслаблення

τ_{max} – характеристичний час у разі механокінетичної кривої при досягненні максимальної амплітуди

F_C, F_R – сили скорочення м'яза в часових точках перегину на рівні фаз скорочення та розслаблення в момент характеристичного часу τ_C, τ_R

F_{max} - максимальне(амплітудне) значення сили скорочення м'яза

V_C, V_R – швидкісні параметри (абсолютні максимальні швидкості фаз скорочення і розслаблення)

V_nC, V_nR – нормовані на амплітуду максимальні швидкості фаз скорочення і розслаблення

IC, IR – імпульсні параметри (показники імпульсу сили в точці F_C, F_R)

I0 – параметр імпульсу сили в точці амплітуди спонтанного скорочення

Вступ

Розвиток нанотехнологій став одним із найважливіших досягнень сучасної науки та техніки, відкриваючи нові можливості для застосування в різних галузях, включаючи медицину, біологію, матеріалознавство та фармакологію. Наночастинки, завдяки своїм унікальним фізико-хімічним властивостям, зокрема високій поверхневій активності та здатності до контролюваного доставки лікарських речовин, мають значний потенціал для створення нових терапевтичних та діагностичних засобів. Особливої уваги заслуговують наночастинки гадолінію, які широко використовуються в медичних дослідженнях і клінічній практиці, зокрема в магнітно-резонансній томографії (МРТ) як контрастні агенти. Їх здатність покращувати якість і роздільну здатність зображень МРТ значно сприяє діагностиці різноманітних патологій, що підвищує ефективність як коректної діагностики, так і самого лікування. Однак, попри численні переваги, використання наночастинок у біологічних системах потребує ретельного вивчення їхнього впливу на різні типи клітин і тканин, щоб гарантувати безпеку та мінімізувати потенційні ризики.

Гладенькі м'язи, що входять до складу багатьох органів і систем організму, відіграють ключову роль у регуляції їх функцій, зокрема судинного тонуусу, бронхіальної провідності та моторики травного тракту. Вивчення впливу наночастинок гадолінію на скоротливу властивість гладеньких м'язів є важливим кроком для розуміння їхнього біологічного ефекту та безпеки застосування. Не лише при вивченні даної конкретної моделі, а і в цілому. Метою цього дослідження є з'ясування впливу наночастинок гадолінію на скоротливу активність гладеньких м'язів, визначення механізмів їх взаємодії та оцінка потенційних змін у функціонуванні гладеньких м'язів під їх дією. Для реалізації поставлених завдань буде проведено комплексне експериментальне дослідження, яке включатиме наступні етапи:

1. Підготовка зразків наночастинок гадолінію та їх характеристика. Визначення розміру, форми, поверхневих властивостей та концентрації наночастинок.
2. Експериментальне вивчення скоротливої активності гладеньких м'язів з використанням ізольованих тканин, експозиція їх наночастинками гадолінію та вимірювання їх скоротливої реакції за допомогою спеціалізованих приладів.
3. Використання програмного забезпечення для збору та сортування отриманих експериментальних даних, їх обробка, модифікація та приведення до необхідного стандартизованого формату.
4. Проведення розрахунків і побудова коректної кінетичної моделі для опису визначувального процесу.
5. Загальний аналіз механізмів взаємодії наночастинок з гладенькими м'язами.
6. Вивчення біохімічних та молекулярних процесів, які можуть бути змінені під впливом наночастинок, їх визначення та методологія отримання та обробки необхідних специфічних показників.
7. Оцінка безпеки та потенційних ризиків.

Отримані результати сприятимуть розширенню знань про біологічні ефекти наночастинок, що в свою чергу допоможе оптимізувати їх використання у різних галузях, зокрема у фармакології, діагностичній медицині, нанобіотехнологіях та підвищити безпеку їх застосування.

Розділ 1. Гладенькі м'язи шлунково-кишкового тракту, як базова модельна система дослідження

1.1. Фізіологічні та функціональні особливості гладеньких м'язів шлунково-кишкового тракту.

Гладенькі м'язи шлунково-кишкового тракту відіграють ключову роль у регуляції моторики травної системи, забезпечуючи перистальтику та транспорт харчової маси. Вони відрізняються від скелетних м'язів своєю здатністю до тривалих скорочень без втоми, що є важливим для підтримки безперервної роботи. Вони розташовані у стінках органів травної системи, зокрема стравоходу, шлунку, тонкої та товстої кишок. Забезпечують не тільки перистальтику, а й тонічні скорочення, що підтримують тонус органів і сприяють просуванню харчових мас по травному тракту. Їхня активність регулюється комплексною взаємодією нервових, гуморальних та механічних механізмів, включаючи автономну та ентеральну нервову систему, гормональні та хімічні впливи, а також власні міогенні механізми.

1.2. Огляд загальних механізмів активності гладеньких м'язів.

Оскільки регуляція коректної роботи забезпечується великою кількістю чинників, маємо добре розуміти всі нюанси та розібратися з цим більш детально. Отже, основні рівні регуляції.

Автономна нервова система

Включає симпатичну та парасимпатичну складові, які мають протилежні ефекти на активність гладеньких м'язів ШКТ:

- Парасимпатична система. Переважно стимулює активність гладеньких м'язів, сприяючи їхньому скороченню. Основним нейромедіатором є ацетилхолін, який діє на мускаринові рецептори гладеньких м'язових клітин.
- Симпатична система. Зазвичай гальмує активність гладеньких м'язів через вивільнення норадреналіну, який діє на α - та β -адренорецептори, викликаючи розслаблення м'язів.

Ентеральна нервова система

Ентеральна нервова система (ЕНС), також відома як "мозок кишечника", складається з двох основних нервових сплетень:

- Мейснерове (підслизове) сплетення, яке регулює секрецію та місцевий кровотік.
- Ауербахове (мієнтеричне) сплетення, яке контролює м'язову активність ШКТ, зокрема координацію перистальтики.

ЕНС може функціонувати незалежно від центральної нервової системи (ЦНС), що дозволяє тонко налаштовувати місцеву активність ШКТ.

Гормональні механізми

Гормони та паракринні сигнальні молекули також відіграють важливу роль у регуляції активності гладеньких м'язів ШКТ:

- Гастрин (стимулює скорочення гладеньких м'язів шлунка, підвищуючи моторику). Секретин (зменшує моторику шлунка, але стимулює секрецію бікарбонатів у підшлунковій залозі).
- Холецистокінін (ХЦК) (викликає скорочення гладеньких м'язів жовчного міхура, сприяючи вивільненню жовчі).

Міогенні механізми

Гладенькі м'язи ШКТ мають власні міогенні механізми, які забезпечують їхню ритмічну активність. Пейсмекерні клітини Кахаля, що генерують спонтанні електричні потенціали (повільні хвилі), які координують ритмічну активність гладеньких м'язів. Електромеханічна зв'язка, тобто потенціали дії, що виникають внаслідок повільних хвиль, викликають відкриття кальцієвих каналів, спричиняючи скорочення м'язів.

Механічні впливи

Механічне розтягнення стінок ШКТ може безпосередньо стимулювати скорочення гладеньких м'язів. Тобто, маємо на увазі наявність механорецепторів, що реагують на розтягнення стінок ШКТ (це активує

механорецептори, які надалі спричиняють рефлекторні скорочення м'язів для просування вмісту кишківника).

Хімічні впливи

Різні хімічні речовини, присутні в просвіті ШКТ, можуть модулювати активність гладеньких м'язів. До них відноситься рН, оскільки кислотність або лужність вмісту ШКТ може впливати на тонус і скоротливу активність гладеньких м'язів, а також нутрієнти та метаболіти, оскільки присутність поживних речовин та їхніх метаболітів також може стимулювати або гальмувати м'язову активність. Враховуючи різноманітність факторів впливу, необхідно точно розуміти, як додаткові речовини (в нашому випадку наночастинки Гадолінію) можуть потенційно впливати на регуляторні механізми та які гіпотетичні ефекти ми зможемо спостерігати. Також, необхідно задуматися над створенням комплексної стратегії уникання, чи нівеляції імовірного згубного впливу. Надалі подивимося, чому Гадоліній і його наночастинки насправді варті вивчення та чим вони корисні для практичного використання.

Розділ 2. Наночастинки гадолінію. Характеристика та використання

2.1. Загальні властивості наночастинок і їх застосування у медицині.

Наночастинки – це матеріали, розміри яких знаходяться в діапазоні від 1 до 100 нанометрів. Їх унікальні фізико-хімічні властивості, такі як висока поверхнева активність, великий відносний об'єм поверхні та квантові ефекти, роблять їх перспективними для широкого кола застосувань у науці та техніці. У медицині наночастинки використовуються для створення нових лікарських форм, покращення діагностики та терапії захворювань. Вони застосовуються в наномедицині для доставки лікарських речовин, створення контрастних агентів для візуалізації та розробки нових терапевтичних методів .

2.2. Властивості наночастинок гадолінію. Їх застосування в діагностиці та терапії

Гадоліній (Gd) є рідкісноземельним елементом, який широко використовується в медицині завдяки своїм магнітним властивостям. Наночастинки гадолінію мають високу магнітну сприйнятливості, що робить їх ідеальними для використання в магнітно-резонансній томографії (МРТ) як контрастних агентів. Тому їх активно використовують для покращення якості зображень МРТ, що дозволяє більш точно діагностувати різноманітні захворювання. Крім того, вони досліджуються як потенційні агенти для магнітно-керованої доставки лікарських речовин до уражених тканин. Розробка та виробництво нового контрастного агента на основі гадолінію з кращими властивостями, ніж наявні контрастні агенти, такими як можливість подвійного контрастування при КТ та МРТ, здатність направляти хелатні іони металів, краща біосумісність і, що найважливіше, націлювання на пухлинні клітини. є істотними. Подвійні СА використовуються приблизно в половині всіх обстежень. Поєднання даних, отриманих за допомогою методів візуалізації, може значно покращити діагностику захворювань. Крім того, ці подвійні СА надають об'ємні дані в орієнтаціях і різних видах (як у 2D, так і в 3D) для кращої та швидкої діагностики. Клінічні дослідження показують, що діагностику таких захворювань, як гострий інсульт, виявлення пухлин і

вразливих бляшок, можна покращити за допомогою послідовного сканування як на МРТ, так і на КТ. Ці подвійні СА можуть підвищити гнучкість систем візуалізації, тому розробка та створення єдиного агента з подвійними контрастними характеристиками в обох методах діагностики та лікування захворювань є дуже важливими.

2.3. Фактори ризику. Вплив наночастинок гадолінію на гладенькі м'язи

Наночастинки, потрапляючи в організм, можуть взаємодіяти з клітинами та тканинами, викликаючи різні біологічні ефекти. Це може включати зміну клітинних функцій, вплив на метаболічні процеси та активацію імунної відповіді. Гладенькі м'язи є важливими для функціонування різних органів і систем організму. Вплив наночастинок гадолінію на скоротливу властивість гладеньких м'язів вивчений недостатньо, але існуючі дані свідчать про потенційну можливість їх впливу на регуляцію судинного тону та інших функцій гладеньких м'язів. Саме тому так важливо проводити дослідження з даної теми, задля розширення можливих сфер подальшого використання. Цитотоксичність та біосумісність наночастинок гадолінію мають бути ретельно вивчені для запобігання можливих негативних ефектів на організм. Різні методи, такі як *in vitro* та *in vivo* тести, використовуються для оцінки впливу на будь-які типи клітини та організм в цілому. Це допомагає визначити потенційні ризики та розробити рекомендації щодо безпечного використання наночастинок у медицині [1-3].

Розділ 3. Висока відтворюваність експериментальних даних. Модельні системи та методи проведення

3.1. Використання щурів в якості модельної системи для досліджень

Щури є однією з найбільш поширених модельних систем у біомедичних дослідженнях завдяки своїй генетичній та фізіологічній подібності до людини, короткому життєвому циклу, високій репродуктивній здатності та добре вивченій анатомії і фізіології. Використання щурів дозволяє моделювати різні аспекти людської біології та патології, зокрема функціонування шлунково-кишкового тракту. Переваги їх використання у дослідженнях гладеньких м'язів шлунково-кишкового тракту включають високу відтворюваність експериментальних даних, оскільки завдяки генетичній однорідності лабораторних популяцій результати досліджень можна легко повторити і порівняти; комплексність дослідження, так як можливість проведення досліджень на рівні органів, тканин та клітин дозволяє отримувати детальну інформацію про біофізичні та біохімічні процеси; відносно невеликі розміри тварин, що значно спрощує утримання та маніпуляції під час експериментів. Також вагомими аргументами для їх використання є добре розроблені методики встановлених ізоляції та дослідження гладеньких м'язів шлунково-кишкового тракту у щурів, що сприяє стандартизації досліджень і підвищенню їх точності. Дослідження впливу наночастинок гадолінію на гладенькі м'язи шлунково-кишкового тракту у щурів дозволяє отримати цінну інформацію про потенційні біологічні ефекти цих наноматеріалів та їх безпеку для використання в медичних застосуваннях.

3.2. Загальна методологія експерименту

Для дослідження скоротливої активності гладеньких м'язів шлунково-кишкового тракту використовуються спеціалізовані методи ізоляції, фіксації та вимірювання скорочень окремих м'язових волокон. Основні етапи та техніка дослідження включають наступні кроки.

Ізоляція м'язових волокон

М'язові волокна гладеньких м'язів шлунково-кишкового тракту ізолюються з тварин, зазвичай щурів. Процедура включає такі кроки, як забій, під час якого щура знеболюють і забивають відповідно до етичних норм та протоколів. Виділення потрібної тканини, шлунково-кишковий тракт видаляється з тіла тварини, і з нього ізолюються сегменти, що містять гладенькі м'язи (наприклад, ділянки кишківника). Підготовка м'язових смужок, тоді виділені сегменти розрізають на невеликі смужки або окремі волокна для подальшого дослідження.

Фіксація та підключення до датчиків.

Ізольовані м'язові волокна фіксуються та підключаються до системи вимірювання, яка дозволяє реєструвати їх скоротливу активність.

Фіксація волокна. Один кінець ізольованого м'язового волокна фіксується до нерухомої опори, тоді як інший кінець прикріплюється до датчика сили або розтягування. Далі підключається система вимірювання. Використовується високочутлива система датчиків, яка дозволяє реєструвати зміну сили скорочення та розтягування волокна. Датчики підключені до комп'ютера для запису та аналізу отриманих даних.

Стимуляція та вимірювання.

Для оцінки скоротливої активності м'язових волокон використовуються різноманітні біологічно активні речовини та розчини з відомими концентраціями. А далі ми окремо розглядаємо варіант із базовими умовами, коли спочатку вимірюються скорочення м'язового волокна у без стимуляції, щоб встановити вихідні показники. І окремо варіант із додаванням розчинів. До м'язових волокон додаються розчини з різними біологічно активними речовинами, такими як ацетилхолін, адреналін або, як в нашому випадку, наночастинки гадолінію. Кожна речовина додається у визначених концентраціях. Після цього відбувається реєстрація зміни в силі скорочення та розтягування м'язового волокна під дією кожної речовини. Дані

аналізуються для визначення впливу конкретної речовини на скоротливу активність.

Аналіз отриманих даних

Отримані результати аналізуються для виявлення специфічних змін у скоротливій активності гладеньких м'язів під впливом досліджуваних речовин. При цьому маємо ряд важливих аспектів, що мають спростити систематизацію даних при встановленні зафіксованих показників та подальшій обробці отриманого масиву значень. Порівняння з контролем. Порівнюються скорочення волокон у контрольних умовах та після додавання кожної біологічно активної речовини. Статистичний аналіз. Виконується для визначення значущості виявлених змін. Результати інтерпретуються з урахуванням біофізичних та біохімічних механізмів дії досліджуваних речовин на гладенькі м'язи. Цей опис методу загалом пояснює процес ізоляції, фіксації та вимірювання скоротливої активності гладеньких м'язів, а також підхід до оцінки впливу біологічно активних речовин на ці м'язи[4].

3.3. Особливості використання наночастинок гадолінію у дослідженні скоротливої активності гладеньких м'язів.

Наночастинки гадолінію (Gd) мають унікальні властивості, які роблять їх цікавими для біомедичних досліджень, включаючи вивчення скоротливої активності. Основні особливості їх використання включають:

Магнітні властивості

Наночастинки гадолінію мають високу магнітну сприйнятливості, що дозволяє використовувати їх для магнітно-резонансної томографії (МРТ) як контрастних агентів. Це надає можливість не лише досліджувати біологічні ефекти цих наночастинок, але й візуалізувати їх розподіл у тканинах. Магнітний контраст при якому значно покращується якість МРТ-зображень, що дозволяє детально вивчати морфологічні зміни в гладеньких м'язах після введення наночастинок. Можливість відстеження розподілу наночастинок у реальному часі допомагає зрозуміти, як вони проникають та розподіляються у м'язових тканинах.

Біохімічна взаємодія з клітинами

Наночастинки гадолінію можуть взаємодіяти з клітинними мембранами та внутрішньоклітинними структурами, що може впливати на біофізичні властивості гладеньких м'язів. Особливо акцентується увага за впливу на іонні канали. Гадоліній може модулювати активність кальцієвих каналів у гладеньких м'язах, що безпосередньо впливає на їх скоротливу активність. Також дані препарати можуть спричиняти окислювальний стрес у клітинах, що впливає на функціональний стан клітин м'язів.

Цитотоксичність та біосумісність

Оцінка цитотоксичності та біосумісності наночастинок гадолінію є критично важливою для визначення їх безпеки при застосуванні в біомедичних дослідженнях. Вивчення впливу наночастинок гадолінію на життєздатність клітин гладеньких м'язів допомагає оцінити потенційні токсичні ефекти. А аналіз запальних відповідей, що викликаються наночастинками, є важливим для оцінки їх біосумісності та довгострокової безпеки.

Експериментальний дизайн

Застосування наночастинок гадолінію в експериментах вимагає ретельного планування та контролю умов дослідження. Починаючи з визначення точної концентрації наночастинок, так як вибір для експериментів має бути обґрунтованим та базуватися на попередніх дослідженнях для уникнення цитотоксичності. А також часу впливу, оскільки тривалість впливу наночастинок на гладенькі м'язи має бути адекватною для виявлення можливих ефектів без надмірного стресу для клітин.

Аналіз отриманих даних

Дані, отримані під час досліджень із використанням наночастинок гадолінію, потребують спеціалізованого аналізу. Результати експериментів мають бути детально описані та визначені для розуміння значущості

виявлених змін у скоротливій активності. Також обов'язкове порівняння результатів з контрольною групою, яка не піддавалась впливу наночастинок, для виявлення специфічних ефектів гадолінію.

3.4. Модуляція для покращення біосумісності і зниження цитотоксичності.

Модуляція наночастинок гадолінію за допомогою органічних функціональних груп є ефективним підходом для зниження їхньої цитотоксичності та покращення біосумісності. Цей процес включає кілька ключових кроків, що дозволяють функціоналізувати поверхню наночастинок, роблячи їх більш безпечними для використання у біомедичних дослідженнях та застосуваннях.

3.4.1. Функціоналізація поверхні наночастинок.

Вибір органічних функціональних груп. Органічні функціональні групи, що використовуються для функціоналізації наночастинок гадолінію, можуть включати:

- **Полиетиленгліколь (ПЕГ):** ПЕГілювання (покриття поверхні наночастинок молекулами поліетиленгліколю) широко використовується для підвищення біосумісності та зниження імунної відповіді.
- **Карбоксильні групи:** Модифікація поверхні карбоксильними групами може покращити розчинність та стабільність наночастинок у водних розчинах.
- **Аміногрупи:** Аміногрупи можуть сприяти ковалентному зв'язуванню біомолекул та підвищенню сумісності з біологічними системами.
- **Фосфоліпіди:** Використання фосфоліпідних шарів може імітувати клітинні мембрани та зменшити токсичний вплив на клітини.

Методи функціоналізації. Існує кілька методів функціоналізації поверхні наночастинок гадолінію:

1. Ковалентне зв'язування: Органічні молекули ковалентно зв'язуються з поверхнею наночастинок через реакції з гідроксильними, карбоксильними або аміногрупами.
2. Фізичне адсорбування: Органічні молекули адсорбуються на поверхні наночастинок завдяки фізичним взаємодіям, таким як ван дер Ваальсові сили та водневі зв'язки.
3. Змішана методика: Поєднання ковалентного зв'язування та фізичного адсорбування для досягнення оптимальної стабільності та біосумісності.

3.4.2. Оцінка цитотоксичності функціоналізованих наночастинок.

Тестування *in vitro*. Функціоналізовані наночастинок тестуються на клітинних культурах для оцінки їхньої цитотоксичності. Основні методи включають:

- МТТ-тест: Оцінка життєздатності клітин шляхом вимірювання активності мітохондріальної дегідрогенази.
- Тест лактатдегідрогенази (LDH): Вимірювання рівня LDH у культуральному середовищі як індикатора клітинного лізису.
- Тест апоптозу: Використання флуоресцентних маркерів для виявлення клітин, що піддаються апоптозу.
- Тестування *in vivo*.

Для більш точного оцінювання біосумісності функціоналізованих наночастинок проводяться дослідження на тваринах, зазвичай на щурах або мишах. Основні показники включають:

- Гематологічні аналізи: Вимірювання різних параметрів крові для виявлення можливих токсичних ефектів.
- Гістологічний аналіз: Вивчення тканин органів для виявлення морфологічних змін під впливом наночастинок.

- Біохімічні тести: Аналіз рівня ферментів, білків та інших біохімічних маркерів у крові та тканинах.

3.4.3. Оптимізація функціоналізації.

На основі результатів тестування проводиться оптимізація процесу функціоналізації для досягнення мінімальної цитотоксичності та максимальної біосумісності. Визначення оптимальної концентрації функціональних груп на поверхні наночастинок. Використання комбінацій різних органічних молекул для досягнення кращих результатів. Забезпечення стабільності функціонального покриття в біологічних умовах.

3.4.4. Валідація та використання.

Після успішної оптимізації функціоналізовані наночастинки гадолінію проходять валідацію для підтвердження їхньої ефективності та безпеки. Валідація включає додаткові дослідження на моделях *in vitro* та *in vivo*, а також проведення регуляторних тестів перед клінічними випробуваннями.

3.5. Використання кінетичних моделей і програмного забезпечення.

Кінетичні моделі є важливим інструментом для аналізу динамічних процесів у біологічних системах. У дослідженні активності гладеньких м'язів шлунково-кишкового тракту (ШКТ), зокрема при впливі наночастинок гадолінію, кінетичні моделі можуть допомогти зрозуміти механізми дії, кількісно оцінити ефекти та передбачити поведінку системи. Для моделювання скорочувальної активності гладеньких м'язів використовуються різні типи кінетичних моделей. Модель Хілла, яка описує силу скорочення м'язів залежно від швидкості скорочення. Це класична модель, що використовується для аналізу м'язових скорочень. І модель Хакслі (детальніша модель, яка враховує механізми взаємодії актину і міозину в м'язах). А також кінетичні моделі рецептор-лігандної взаємодії, що

використовуються для аналізу взаємодії наночастинок гадолінію з клітинними рецепторами та їхнього впливу на кальцієві канали.

Наступний етап – збір та обробка даних. Після проведення експериментів і отримання даних про скорочувальну активність гладеньких м'язів необхідно провести нормалізацію даних, тобто зведення їх до порівнянного формату. А тому надалі підбирається визначення основних параметрів, таких як максимальна сила скорочення, час досягнення піку скорочення, час релаксації тощо. Надалі застосовуємо методи фільтрації для усунення шумів і артефактів у вимірюваннях. Тепер приходимо до необхідності побудови нашої кінетичної моделі на основі зібраних і оброблених даних. Починаємо з визначення математичних рівнянь, що описують зміну сили скорочення та розтягування м'язів у часі з використанням методів оптимізації для підбору параметрів моделі, що найкраще відповідають експериментальним даним. Після цього робимо проведення чисельних симуляцій для верифікації моделі. Аналіз результатів і їх подальша інтерпретація. Порівняння з експериментальними даними. Проводиться верифікація моделі шляхом порівняння з незалежними експериментальними даними. Чутливісний аналіз, тобто вивчення впливу зміни параметрів моделі на результати для визначення ключових факторів, що впливають на скорочувальну активність. І, надалі, використання моделі для прогнозування поведінки м'язів під впливом різних концентрацій наночастинок гадолінію та інших біологічно активних речовин. На основі аналізу кінетичної моделі робляться висновки про механізми дії наночастинок гадолінію на гладенькі м'язи. Тут варто зазначити, що алгоритміка побудови базується на певних маніпуляціях з графічними даними. Ми мусимо не лише аналізувати отримані графіки, а також проводити їх лінеаризацію та нормалізацію, окремо вже після нормалізації даних. Особливо при визначенні необхідних коефіцієнтів для подальших розрахунків. Кінетичний аналіз проводиться для встановлення кількісних показників, за допомогою яких можна було б здійснювати адекватне

порівняння однієї вибірки або різних вибірок даних, навіть якщо вони напрацьовані різними дослідниками на препаратах, які мають неоднакові розміри і які одержані від різних тварин. У даному випадку ключовим розрахунковим критерієм є нормована (відносно максимальної сили скорочення) максимальна швидкість. Цей параметр визначають окремо для фаз скорочення та розслаблення.

Окремо виділяємо оцінку впливу на функціонування кальцієвих каналів, що є ключовими для процесу скорочення. Окремо йде оцінка взаємодії з клітинними рецепторами та їхній вплив на сигналізаційні шляхи. Кількісна оцінка рівня токсичності наночастинок гадолінію та визначення безпечних концентрацій для використання в медичних застосуваннях.

Підсумовуючи, можна сказати, що використання кінетичних моделей у дослідженні активності гладеньких м'язів ШКТ дозволяє глибше зрозуміти механізми дії наночастинок гадолінію, забезпечити кількісну оцінку їхнього впливу та передбачити поведінку системи під різними умовами. Це є важливим кроком у розробці нових біомедичних застосувань нанотехнологій та забезпеченні їхньої безпеки [4].

Розділ 4. Результати та обговорення

Як було попередньо встановлено, органічні нанокompозити з Gd^{3+} (Gd-NC), як і вільні від Gd^{3+} нанокompозити (NC), у водній суспензії мають розмір часток близько 4-6 нм, у зв'язку з чим, імовірно, можуть легко проникати через стінки капілярів і рухатися по міжклітинному матриксу. Тому можна передбачити, що використання Gd-NC у якості МРТ-контрастуючого реагента може супроводжуватися безпосередньою дією цього нанокompозиту на окремі клітини, зокрема збудливих тканин. Також оскільки попередніми дослідженнями було встановлено здатність наноматеріалів оксидів металів змінювати функціональні властивості вісцеральних гладеньких м'язів, у даному дослідженні було цікавим з'ясувати, чи впливає Gd-NC на спонтанні і викликані скорочення гладеньких м'язів травного тракту (шлунку і товстого кишечника) щурів. У якості груп порівняння було проаналізовано моторику м'язів у групах контролю та ін'єктованих суспензією NC.

4.1. Спонтанна скорочувальна активність шлунку за дії органічних нанокompозитів з Gd^{3+}

Мультиклітинні препарати кільцевих гладеньких м'язів антрального відділу ізолювали з шлунку щурів, яким попередньо (за 1 годину перед початком препаратники тканин) внутрішньовенно вводили суспензію Gd-NC у дозі 10 мг/кг маси тіла об'ємом 100 мкл. У випадку групи контролю, тваринам ін'єктували стерильний фізіологічний розчин для внутрішньовенної інфузії у об'ємі 100 мкл.

Контрольні м'язові препарати *antrum* характеризувалася спонтанними скороченнями, які склалися з двох повторюваних патернів: високоамплітудні з низькою частотою (з середньою амплітудою 3.6 ± 0.4 мН та частотою 0.57 ± 0.3 скорочень за 10 хв) та низькоамплітудні з високою частотою (з середньою амплітудою 0.98 ± 0.17 мН та частотою 1.8 ± 0.4 скорочень за 10 хв) (рис. 4.1). Такі патерни скорочувальної активності гладеньких м'язів шлунку можна пояснити неоднорідністю популяцій пейсмерних клітин – інтерстиціальних клітин Кахаля [5].

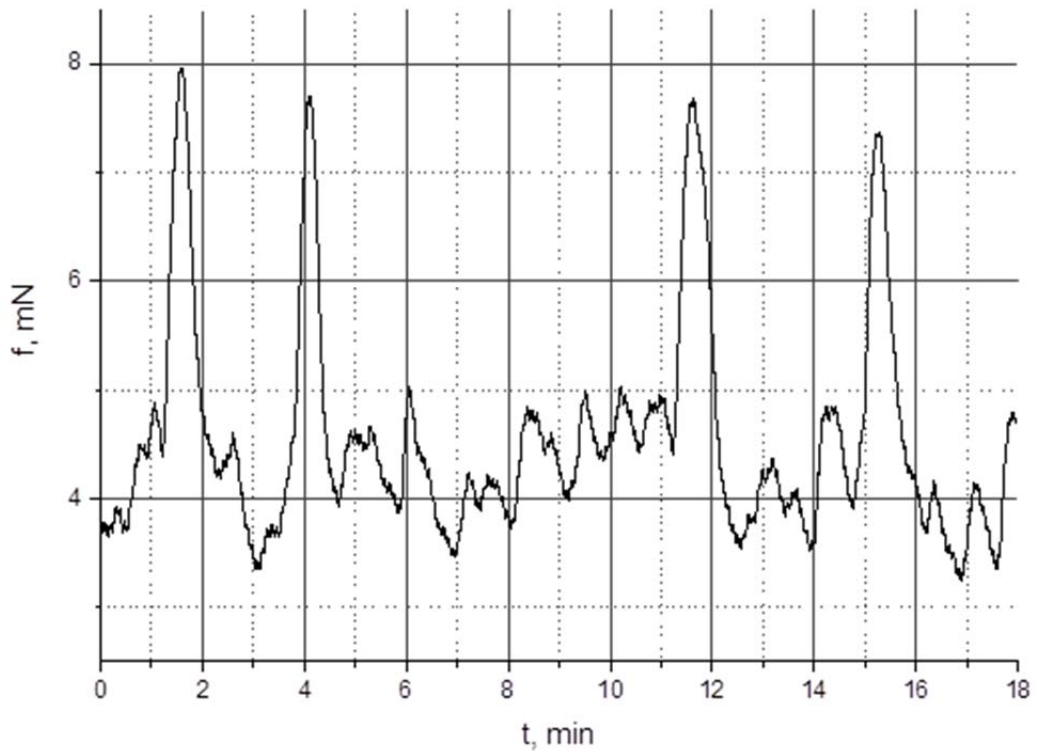


Рис. 4.1. – Контрольні спонтанні скорочення кільцевих гладеньких м'язів *antrum* шурів. Наведено типову механограму.

Надалі високоамплітудні спонтанні скорочення були проаналізовані методом повного механокінетичного аналізу [6]. Встановлено, що інші (крім амплітуди F_{\max}) силові параметри становлять: параметр сили, за якої фаза скорочення характеризується максимальною швидкістю (F_C), у середньому 1.60 ± 0.19 мН та параметр сили, за якої фаза розслаблення характеризується максимальною швидкістю (F_R), у середньому 2.47 ± 0.06 мН.

Блок часових параметрів характеризувався наступними значеннями: час досягнення амплітуди (τ_{\max}) у середньому 26.36 ± 2.26 с, а характеристичні часи фаз скорочення (τ_C) і розслаблення (τ_R) відповідно 9.33 ± 0.84 с та 31.28 ± 4.56 с.

Імпульсні параметри у контролі були наступними: показник імпульсу сили в точці F_C (I_C) становив у середньому 24.02 ± 3.87 мН·с, а показник імпульсу сили в точці F_R (I_R) у середньому становив 97.13 ± 5.83 мН·с. Також

параметр імпульсу сили в точці амплітуди спонтанного скорочення (I_0) становив 96.01 ± 9.85 мН·с.

Швидкісні параметри V_C і V_R у випадку контрольних високоамплітудних скорочень гладеньких м'язів *antrum* середньому складали: максимальна швидкість фази скорочення (V_C) 0.27 ± 0.01 мН/с і максимальна швидкість фази розслаблення (V_R) 0.13 ± 0.02 мН/с. При нормуванні абсолютних швидкостей на амплітуду скорочень маємо параметри: нормована максимальна швидкість фази скорочення (V_{nc}) у середньому 0.076 ± 0.003 с⁻¹ та нормована максимальна швидкість фази розслаблення (V_{nr}) у середньому 0.050 ± 0.003 с⁻¹.

Виявлено, що ін'єктування Gd-NC загалом спричиняє збільшення амплітуди і зниження частоти спонтанних скорочень шлунку, змінюючи їх патерни, ймовірно, за рахунок накладання скорочень і формування складних скорочень (рис. 4.2). Умовно високоамплітудні скорочення характеризувалися середньою амплітудою 10.65 ± 0.77 мН та частотою 0.89 ± 0.09 скорочень за 10 хв) та низькоамплітудні характеризувалися середньою амплітудою 5.24 ± 0.26 мН та частотою 9.88 ± 1.04 скорочень за 10 хв).

Також механокінетичним аналізом було виявлено, що Gd-NC індукує значні зміни окремих параметрів високоамплітудних спонтанних скорочень препаратів гладеньких м'язів *antrum*. Так, даний чинник спричиняв суттєве зростання часу, за якого спостерігалася максимальна швидкість фази скорочення τ_C (вона становила у середньому $211.8 \pm 12.8\%$ щодо контролю $p < 0.05$, $n=5$); аналогічний параметр фази розслаблення τ_R також зростав у середньому до $175.6 \pm 11.1\%$ ($p < 0.05$, $n=5$), а амплітудний параметр τ_{max} у середньому був на рівні $141.7 \pm 4.5\%$ ($p < 0.05$, $n=5$) (рис. 4.3 А).

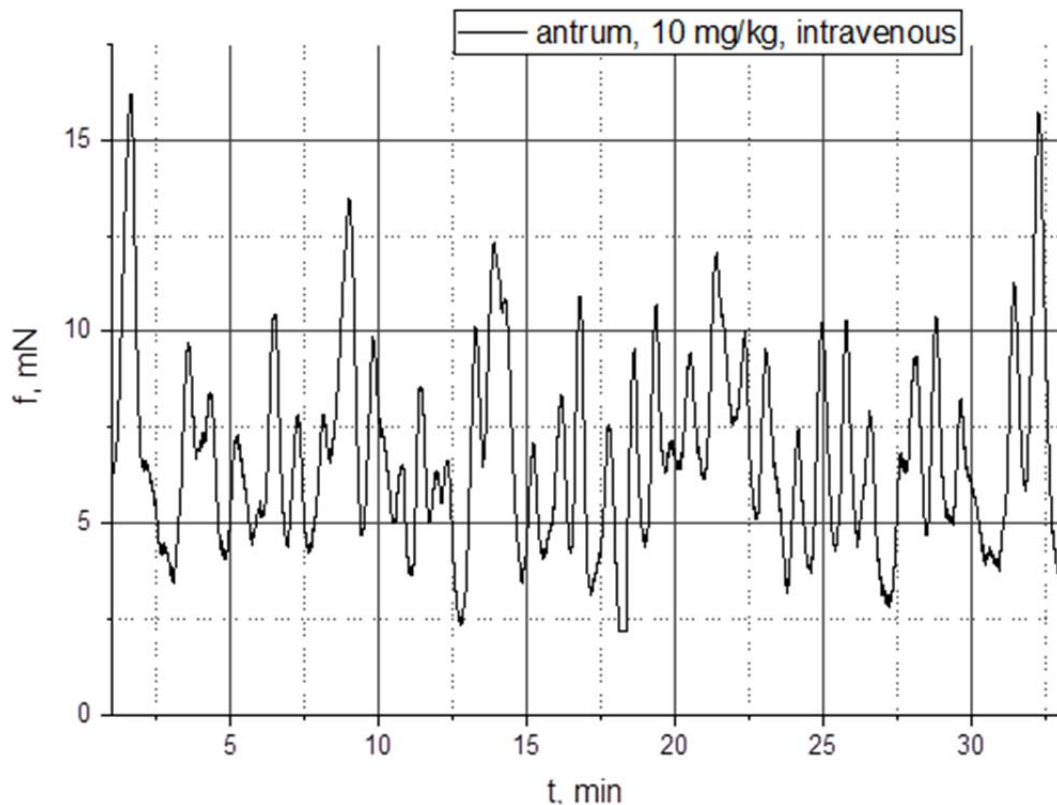


Рис. 4.2. – Спонтанні скорочення кільцевих гладеньких м'язів *antrum* щурів, яким за 1 годину до початку дослідження моторики внутрішньовенно вводили Gd-NC у дозі 10 мг/кг. Наведено типову механограму.

Також на тлі Gd-NC у фактично у три рази збільшувалися силові параметри (F_{\max} , F_C та F_R) (рис. 4.3 Б): зокрема, за даних умов максимум сили високоамплітудних скорочень у середньому становив $285.8 \pm 8,9\%$ щодо контролю ($n=5$, $p<0.001$). Також параметр сили, при якій фіксується максимальна швидкість фази скорочення (F_C) у середньому був на рівні $308,1 \pm 7,5\%$ ($n=5$, $p<0.001$) та параметр сили, при якій спостерігається максимальна швидкість фази розслаблення (F_R) у середньому був $283. \pm 9.2\%$ ($n=5$, $p<0.001$).

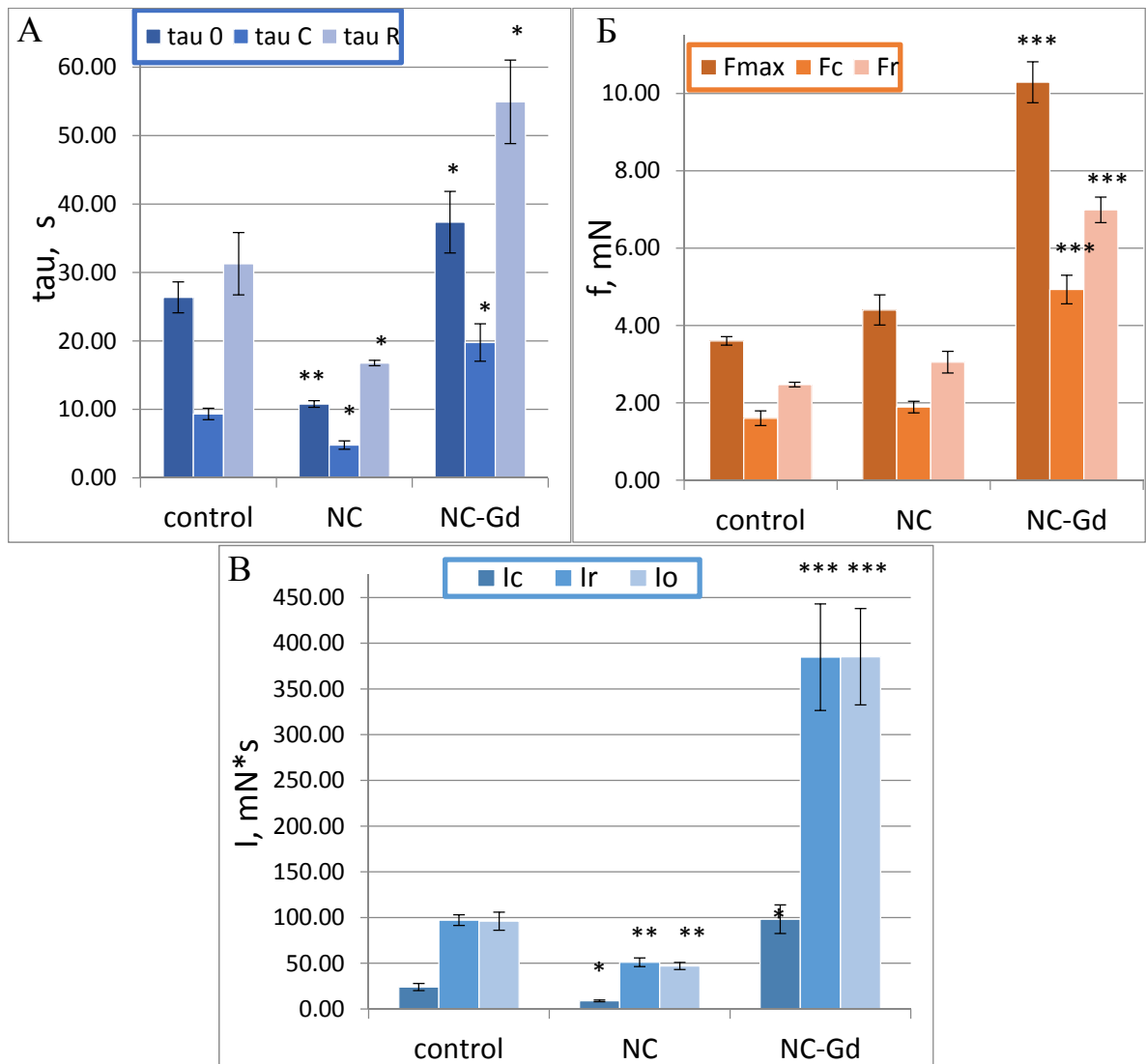


Рис. 4.3. – Параметри спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів *antrum* щурів у контролі та за внутрішньовенного ін'єктування Gd-NC (у дозі 10 мг/кг): А – часові параметри (τ_0 , τ_C і τ_R); Б – силові параметри (F_{max} , F_C та F_R); В – імпульсні параметри (I_0 , I_C та I_R).

$n = 5$; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ – різниця достовірна щодо контролю.

Також, із застосуванням механокінетичного аналізу виявлено, що за ін'єктування Gd-NC також суттєво (у чотири рази) зростали імпульсні параметри (I_C , I_R та I_0) спонтанних скорочень шлунку. Так, показник імпульсу сили в точці F_C (I_C) у середньому становив 408.5 ± 15.9 % ($n=5$, $p < 0.01$) щодо відповідного контрольного показника. Також за дії гадоліній-вмісних нанокompозитів спостерігалось збільшення показника імпульсу сили

скорочень в точці F_R (I_R) у середньому щодо контролю зростав до $396,2 \pm 15,1\%$ ($n=5$, $p<0.01$) щодо контролю. Також параметр імпульсу сили в точці амплітуди спонтанного скорочення (I_0) становив $401.2 \pm 13.7\%$ ($n=5$, $p<0.01$) щодо контрольного значення (рис. 4.3, В).

Варто відзначити, що за дії Gd-NC зростали у понад два рази показники абсолютних максимальних швидкостей фаз скорочення (V_C) і розслаблення (V_R) (рис. 4.4 А): вони становили у середньому $225.9 \pm 16.4\%$ ($n=5$, $p<0.05$) та $253.9 \pm 21.2\%$ ($n=5$, $p<0.05$) відповідно. Втім, за нормування V_C і V_R на амплітуду скорочень спостерігалася нівелювання ефектів цього нанокompatиту (рис. 4.4 Б): нормована максимальна швидкість фази скорочення (V_{nc}) у середньому складала $77.6 \pm 16.5\%$ ($n=5$, $p>0.05$), та нормована максимальна швидкість фази розслаблення (V_{nr}) – у середньому $89.0 \pm 20.7\%$ ($n=5$, $p>0.05$).

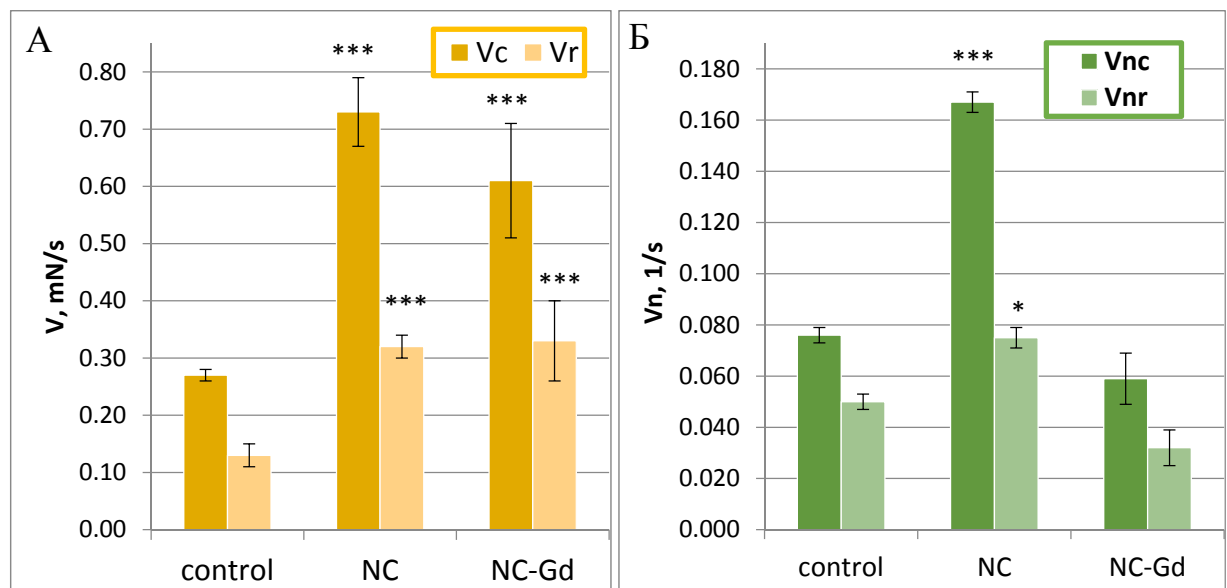


Рис. 4.4. – Швидкісні параметри спонтанних скорочень *antrum* щурів у контролі та за попередньої інкубації препаратів на за внутрішньовенного ін'єктування Gd-NC (у дозі 10 мг/кг): А – абсолютні максимальні швидкості фаз скорочення і розслаблення (відповідно V_C і V_R); Б – нормовані на амплітуду максимальні швидкості фаз скорочення і розслаблення (відповідно V_{nc} і V_{nr}). * - $p<0.05$, ** - $p<0.01$, *** - $p<0.001$ – різниця достовірна щодо контролю.

У якості групи порівняння для аналізу механокінетичних ефектів за внутрішньовенного ін'єктування Gd-NC (у дозі 10 мг/кг) нами було досліджено аналогічні механокінетичні параметри спонтанних скорочень кільцевих гладеньких м'язів *antrum* щурів за ін'єктування тваринам суспензії безгадолінієвих органічних нанокompatитів NC (аналогічно – у дозі 10 мг/кг). Встановлено, що за даних умов також відбуваються суттєві зміни механічної активності гладеньком'язових препаратів (рис. 4.5).

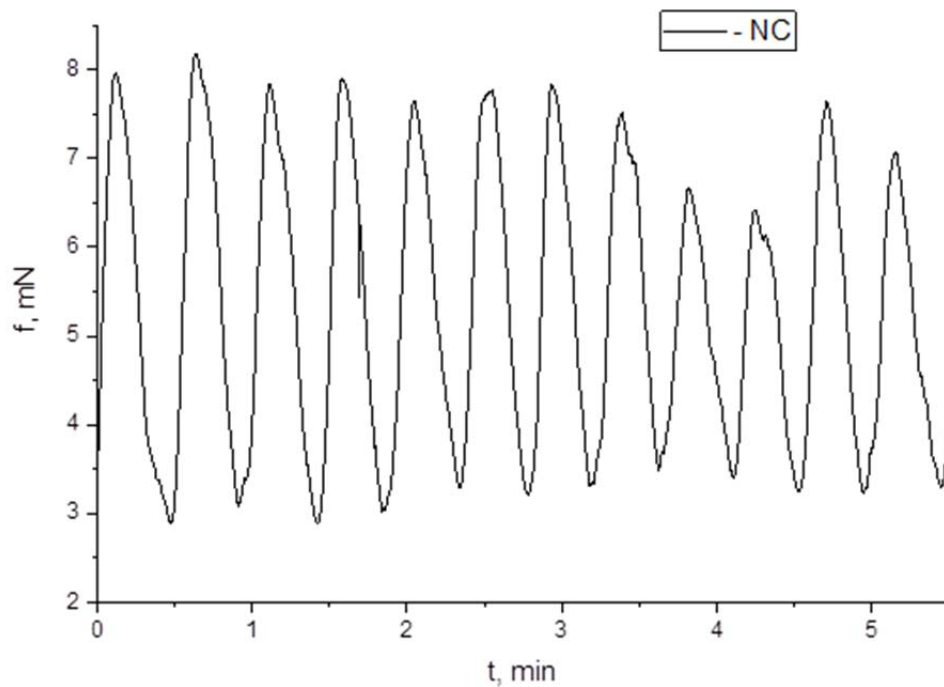


Рис. 4.5. – Спонтанні скорочення кільцевих гладеньких м'язів *antrum* щурів, яким за 1 годину до початку дослідження моторики внутрішньовенно вводили NC у дозі 10 мг/кг. Наведено типову механограму.

4.2. Спонтанна скорочувальна активність товстого кишечника за дії органічних нанокompatитів з Gd^{3+}

У межах виконання наступного завдання ми дослідили механокінетику спонтанних скорочень кільцевих гладеньких м'язів товстого кишечника (на прикладі сліпої кишки – *caecum*) щурів, у контролі та за умов внутрішньовенного введення тваринам суспензій органічних нанокompatитів NC та Gd-NC.

Як і у випадку гладеньких м'язів *antrum*, препарати кільцевих гладеньких м'язів *caecum* мали спонтанну моторику, яка мала два виражені патерни: високоамплітудні з низькою частотою (з середньою амплітудою 5.8 ± 1.4 мН та частотою 8.1 ± 1.3 скорочень за 10 хв) та низькоамплітудні з високою частотою (з середньою амплітудою 0.95 ± 0.04 мН та частотою 18.1 ± 3.3 скорочень за 10 хв) (рис. 4.6).

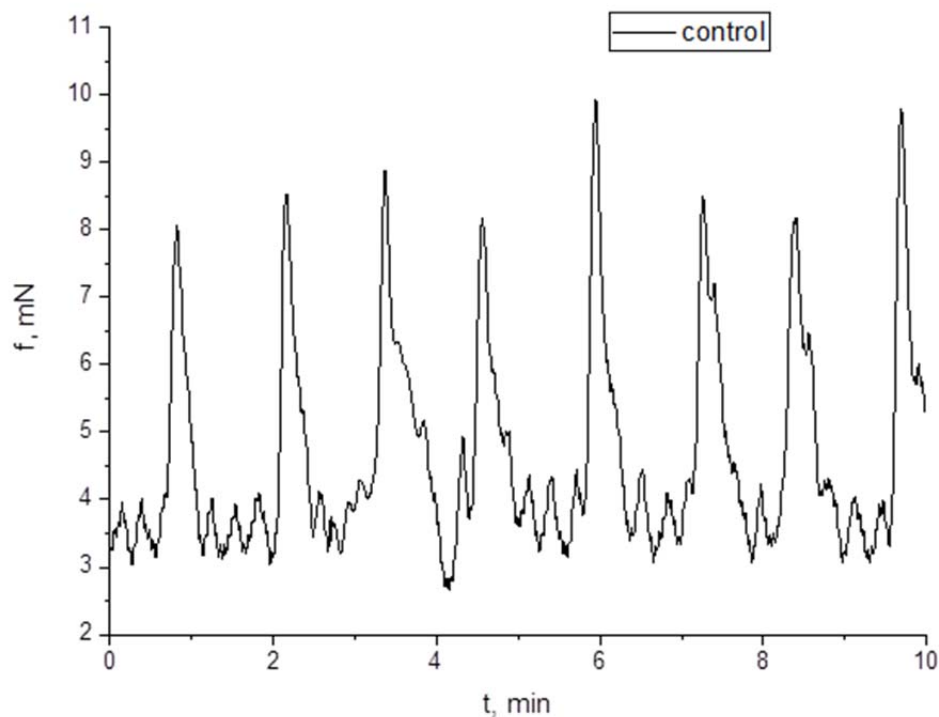


Рис. 4.6. – Контрольні спонтанні скорочення кільцевих гладеньких м'язів *caecum* щурів. Наведено типову механограму.

Розподіл спонтанних скорочень гладеньких м'язів товстого кишечника щурів обумовлюється присутністю в стінках цього відділу травного тракту

двох популяцій інтерстиціальних клітин Кахаля [5]. Так, для гладеньких м'язів *colon* щурів показано, що клітини Кахаля у Мейснерівському сплетенні (ICC-SM) забезпечують спонтанні хвилі деполяризації, що спричиняють патерн високочастотних низькоамплітудних скорочень (за даними літератури їх частота у *colon* становить 10-15 скорочень за хвилину), тоді як клітини Кахаля у Ауербахівському сплетенні (між кільцевими і поздовжніми шарами гладеньком'язових клітин, ICC-MY) – забезпечують патерн низькочастотних високоамплітудних скорочень (за даними літератури їх частота у *colon* становить у середньому 0,5-1,5 скорочень за хвилину) [5,7]. Тож ми можемо передбачити, що у сусідньому (щодо у *colon*) відділі товстого кишечника – *saecum* присутні ці дві популяції пейсмейкерних клітин.

Механокінетичний аналіз було застосовано до високоамплітудних спонтанних скорочень *saecum* у контролі. Встановлено, що їх силові параметри (F_{\max} , F_C та F_R) у середньому становили: 4.25 ± 0.25 мН, 1.60 ± 0.19 мН та 2.90 ± 0.16 мН, відповідно. Часові параметри (τ_0 , τ_C і τ_R) цих скорочень були у середньому: 13.08 ± 1.64 с, 7.09 ± 1.23 с та 19.07 ± 2.15 с, відповідно. Імпульсні параметри (I_C , I_R та I_0) спонтанних скорочень у середньому становили: 14.78 ± 3.18 мН·с, 54.38 ± 5.42 мН·с та 55.26 ± 7.01 мН·с, відповідно.

Значення абсолютних швидкостей фаз скорочення (V_C) і розслаблення (V_R) у випадку високоамплітудних спонтанних скорочень препаратів *saecum* у контролі становили: 0.70 ± 0.08 мН/с та 0.36 ± 0.05 мН/с, відповідно. Нормовані на амплітуду параметри максимальних швидкостей фаз скорочення і розслаблення (відповідно Vn_C і Vn_R) у середньому складали: 0.162 ± 0.016 с⁻¹ та 0.082 ± 0.007 с⁻¹, відповідно.

Надалі було виявлено, що ін'єктування Gd-NC, як і у випадку м'язів шлунку, спричиняє збільшення амплітуди і зниження частоти спонтанних скорочень товстого кишечника за рахунок формування виражених складних скорочень (рис. 4.7). У даному випадку умовно високоамплітудні скорочення характеризувалися середньою амплітудою F_{\max} 7.39 ± 0.26 мН (що у

середньому становить 173.88 ± 3.52 % щодо контролю, $n=5$, $p<0.001$) та частотою 4.73 ± 0.58 скорочень за 10 хв).

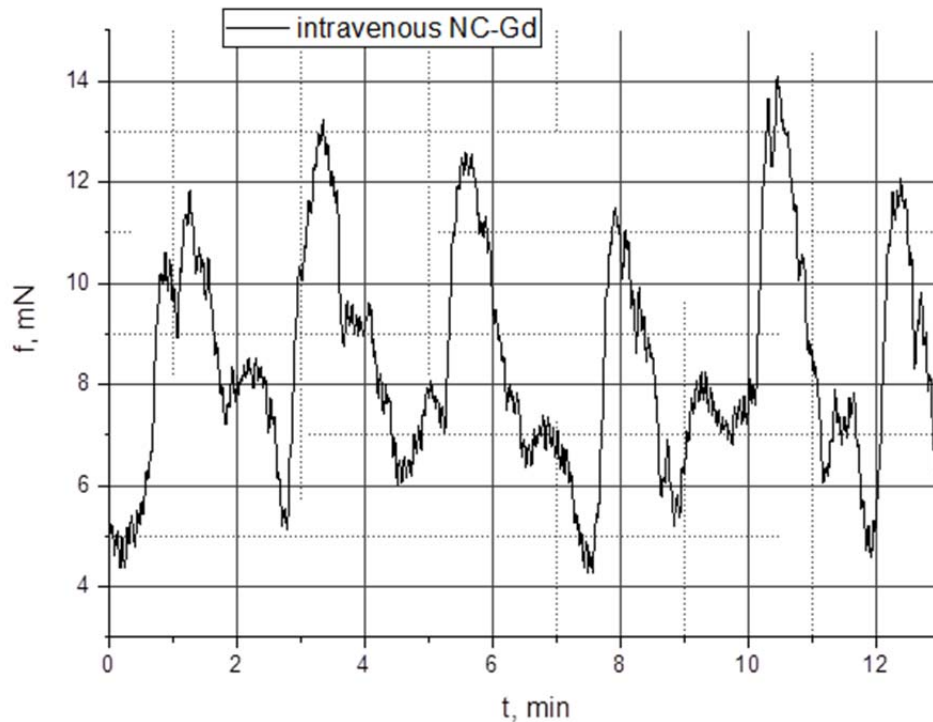


Рис. 4.7. – Спонтанні скорочення кільцевих гладеньких м'язів *саесит* щурів, яким за 1 годину до початку дослідження моторики внутрішньовенно вводили Gd-NC у дозі 10 мг/кг. Наведено типову механограму.

Мультипараметричним аналізом окремих спонтанних скорочень гладеньких м'язів *саесит* встановлено, що за ін'єктування Gd-NC інші, крім амплітуди F_{\max} , силові параметри F_C та F_R зростали у аналогічній мірі, становлячи відповідно 196.88 ± 14.29 % ($n=5$, $p<0.01$) та 175.52 ± 2.55 % ($n=5$, $p<0.001$) (рис 4.8 А). Також у середньому в понад два рази збільшувалися показники характеристичних часів τ_0 , τ_C і τ_R , які відповідно становили щодо контролю: 228.90 ± 7.92 %, 211.14 ± 19.64 % та 235.50 ± 10.22 % (у всіх випадках $n=5$, $p<0.01$) (рис. 4.8 Б).

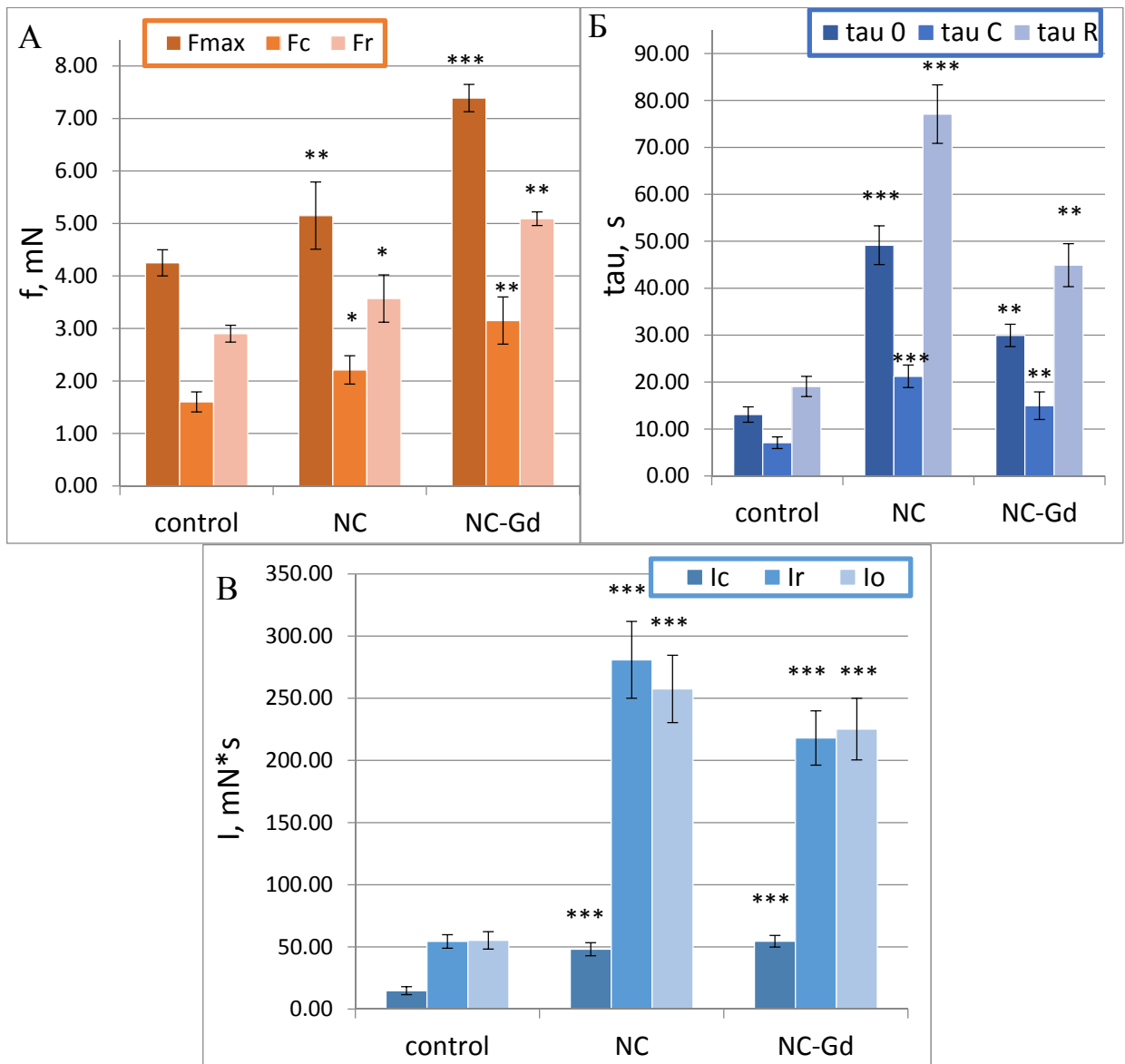


Рис. 4.8. – Параметри спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів *саесит* щурів у контролі та за внутрішньовенного ін'єктування Gd-NC (у дозі 10 мг/кг): А – силові параметри (F_{\max} , F_C та F_R); Б – часові параметри (τ_0 , τ_C і τ_R); В – імпульсні параметри (I_0 , I_C та I_R). $n = 5$; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ – різниця достовірна щодо контролю.

У випадку імпульсних параметрів (I_0 , I_C та I_R), то за дії Gd-NC вони збільшувалися у понад три з половиною рази щодо відповідних контрольних показників і становили, відповідно: $368.94 \pm 8.56\%$, $400.97 \pm 10.01\%$ та $407.47 \pm 11.03\%$ (у всіх випадках $n=5$, $p < 0.001$) (Рис. 4.8 В).

Цікаво, що за дії Gd-NC на товстий кишечник, на відміну від шлунку, відбувалося зменшення показників абсолютних максимальних швидкостей

фаз скорочення (V_C) і розслаблення (V_R) (рис. 4.9 А): за дії на *saesum* вони становили у середньому 74.29 ± 9.62 % ($n=5$, $p<0.05$) та 63.89 ± 8.7 % ($n=5$, $p<0.05$) відповідно. За нормування V_C і V_R на амплітуду скорочень відмінності щодо контролю були ще суттєвішими (рис. 4.9 Б): нормована максимальна швидкість фази скорочення (V_{nc}) у середньому складала 36.42 ± 12.03 % ($n=5$, $p<0.01$), та нормована максимальна швидкість фази розслаблення (V_{nr}) – у середньому 39.02 ± 11.56 % ($n=5$, $p<0.01$).

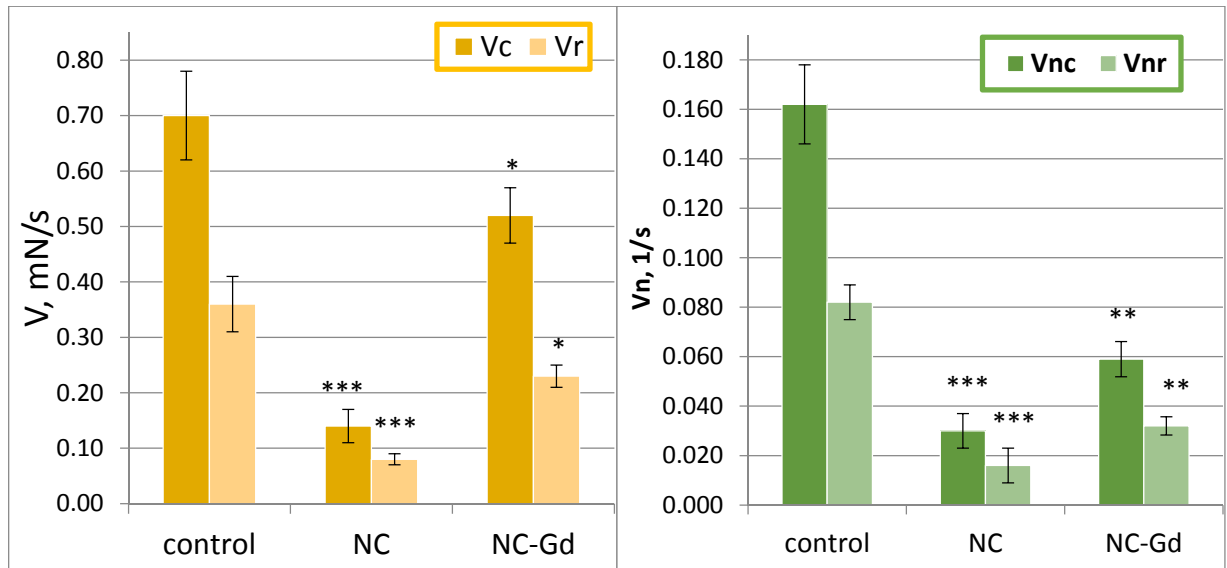


Рис. 4.9. – Швидкісні параметри спонтанних скорочень *saesum* щурів у контролі та за попередньої інкубації препаратів на за внутрішньовенного ін'єктування Gd-NC (у дозі 10 мг/кг): А – абсолютні максимальні швидкості фаз скорочення і розслаблення (відповідно V_C і V_R); Б – нормовані на амплітуду максимальні швидкості фаз скорочення і розслаблення (відповідно V_{nc} і V_{nr}).

* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ – різниця достовірна щодо контролю.

Надалі було проаналізовано особливості спонтанної скорочувальної активності товстого кишечника щурів за внутрішньовенного ін'єктування органічних нанокompatитів без іонів гадолінію – суспензії NC (за аналогічної дози 10 мг/кг). Ці нанокompatити також спричиняли суттєві зміни механічної активності гладеньком'язових препаратів (рис. 4.10): сила високоамплітудних спонтанних скорочень у середньому становила $5.15 \pm$

0.64 мН ($121.18 \pm 12.43\%$, $n=5$, $p<0.05$), а їх частота – 3.48 ± 0.42 скорочень за 10 хвилин ($n=5$, $p<0.001$).

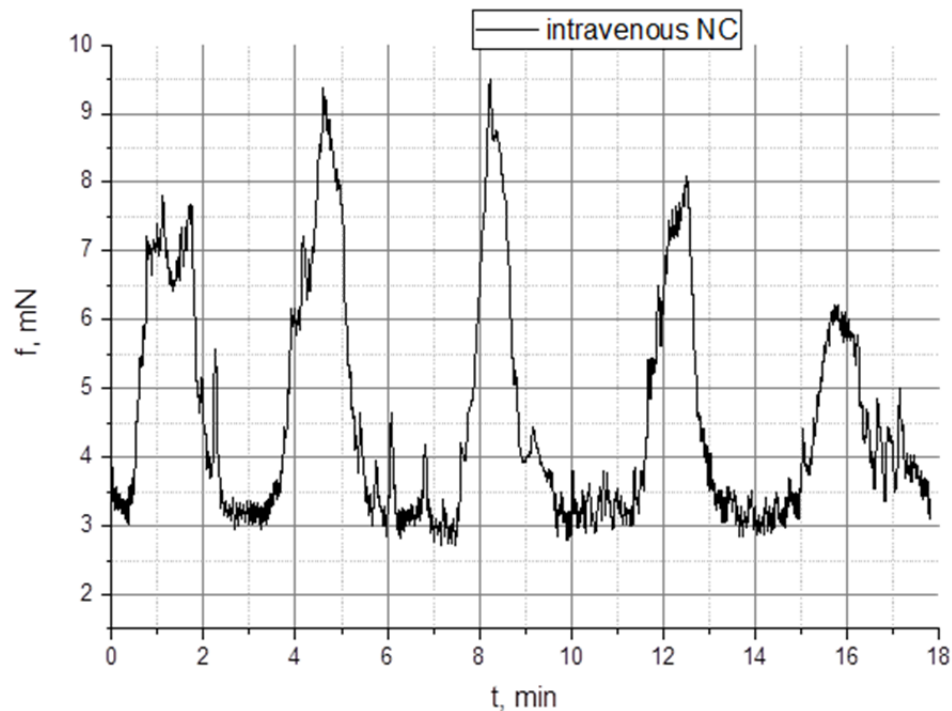


Рис. 4.10. - Спонтанні скорочення кільцевих гладеньких м'язів *саесит* щурів, яким за 1 годину до початку дослідження моторики внутрішньовенно вводили NC у дозі 10 мг/кг. Наведено типову механограму.

Такі зміни скорочувальної активності гладеньких м'язів *саесит* позначилися на механокінетиці поодиноких циклів скорочення-розслаблення (рис. 4.8 і 4.9). Мультипараметричним аналізом встановлено, що за ін'єктування NC силові параметри F_C та F_R були достовірно підвищені щодо контролю, становлячи відповідно $138.13 \pm 12.22\%$ ($n=5$, $p<0.05$) та $123.10 \pm 12.61\%$ ($n=5$, $p<0.05$) (рис 4.8 А). Також у середньому в понад три рази збільшувалися показники характеристичних часів τ_0 , τ_C і τ_R , які відповідно становили щодо контролю: $375.84 \pm 8.41\%$, $299.44 \pm 11.30\%$ та $404.25 \pm 8.08\%$ (у всіх випадках $n=5$, $p<0.001$) (рис. 4.8 Б).

За дії NC, як і Gd-NC, відбувалося зменшення показників абсолютних максимальних швидкостей фаз скорочення (V_C) і розслаблення (V_R) (рис. 4.9 А): за дії на *саесит* вони становили у середньому $20.00 \pm 19.43\%$ ($n=5$,

$p < 0.001$) та 22.22 ± 12.50 % ($n=5$, $p < 0.001$) відповідно. За нормування V_C і V_R на амплітуду скорочень відмінності залишалися на тому ж рівні (рис. 4.9 Б): нормована максимальна швидкість фази скорочення (V_{nc}) у середньому складала 18.52 ± 23.33 % ($n=5$, $p < 0.001$), та нормована максимальна швидкість фази розслаблення (V_{nr}) – у середньому 19.51 ± 43.75 % ($n=5$, $p < 0.001$). Відмінності між ефектами NC і Gd-NC були вірогідними (у всіх випадках $p < 0.05$), що дозволяє передбачити, що ймовірно, вони обумовлюються саме дією органічного компонента нанокompозиту на тканину гладеньких м'язів.

4.3. Карбахолін-індуковані скорочення шлунку і товстого кишечника щурів за дії органічних нанокompозитів Gd-NC і NC

Як було нами встановлено, нанокompозити Gd-NC і NC спричиняють підвищення збудливості гладеньких м'язів шлунково-кишкового тракту. Це спричиняє формування складних скорочень, коли спонтанне скорочення виникає раніше, ніж має відбутися фаза розслаблення попереднього скорочення. Ймовірно, це відбувається внаслідок збільшення частоти потенціалів дії пейсмерних клітин Кахаля та/або за рахунок значного посилення внеску рецептор-опосередкованого шляху участі збуджувальних нейромедіаторів інтрамуральних нейронів м'язової стінки у регуляції скорочувальної функції м'язів. Тому на наступному етапі нами було досліджено скорочення гладеньком'язових препаратів шлунку і товстого кишечника щурів, яким ін'єктували суспензії нанокompозитів Gd-NC та NC, викликані аплікуванням негідролізабельного аналога нейромедіатора парасимпатичної нервової системи ацетилхоліну – карбахоліну (10 мкМ).

Встановлено, що за присутності в тканинах нанокompозитів Gd-NC та NC відбувається суттєве (у понад два рази) посилення сили карбахолін-викликаних скорочень (рис. 4.11 та 4.12) гладеньких м'язів *antrum* і *caecum*, що свідчить на користь нашого припущення про посилення внеску холінорецептор-опосередкованої регуляції скорочувальної функції гладеньких м'язів стінок травного тракту.

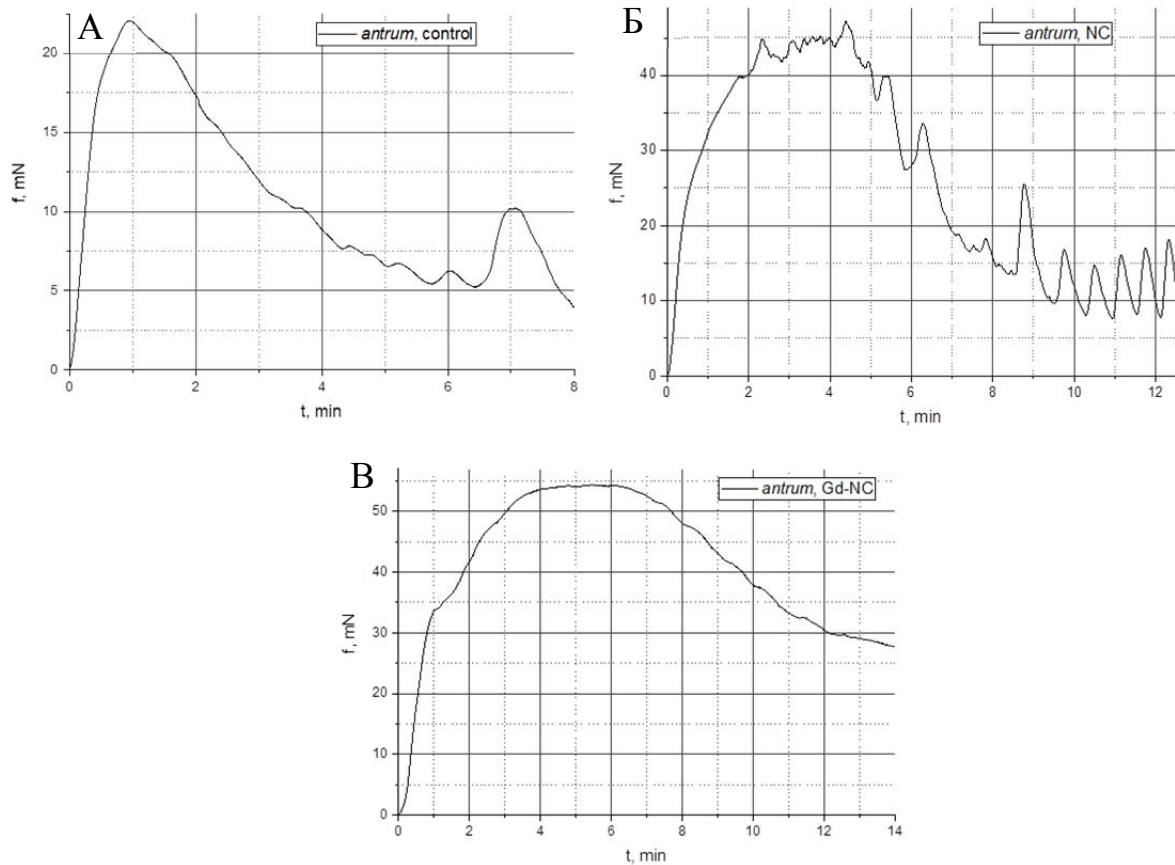


Рис. 4.11. – Викликані карбахоліном (10 мкМ) скорочення кільцевих гладеньких м'язів *antrum* щурів: А – у контролі; Б, В – за 1 годину до початку дослідження моторики внутрішньовенно вводили NC та Gd-NC у дозі 10 мг/кг. Наведено типові механограми.

Амплітуда фазного компонента карбахолін-активованого скорочення у випадку гладеньких м'язів *antrum* за дії NC у середньому становили 45.63 ± 6.11 мН, за дії Gd-NC були приблизно на тому ж рівні (у середньому 46.18 ± 5.47 мН), тоді як контрольні скорочення мали амплітуду 16.41 ± 1.68 мН.

Гладенькі м'язи *саесит* характеризувалися амплітудою фазного компонента карбахолін-активованих скорочень у випадку за дії NC у середньому 28.81 ± 6.11 мН, за дії Gd-NC мали амплітуду 18.86 ± 6.22 мН, тоді як контрольні скорочення мали амплітуду 10.17 ± 1.52 мН.

Важливо також відмітити, що в обох випадках карбахолін-активованих скорочень суттєво збільшувалися тонічні компоненти та відбувалося значне уповільнення кінетики розслаблення.

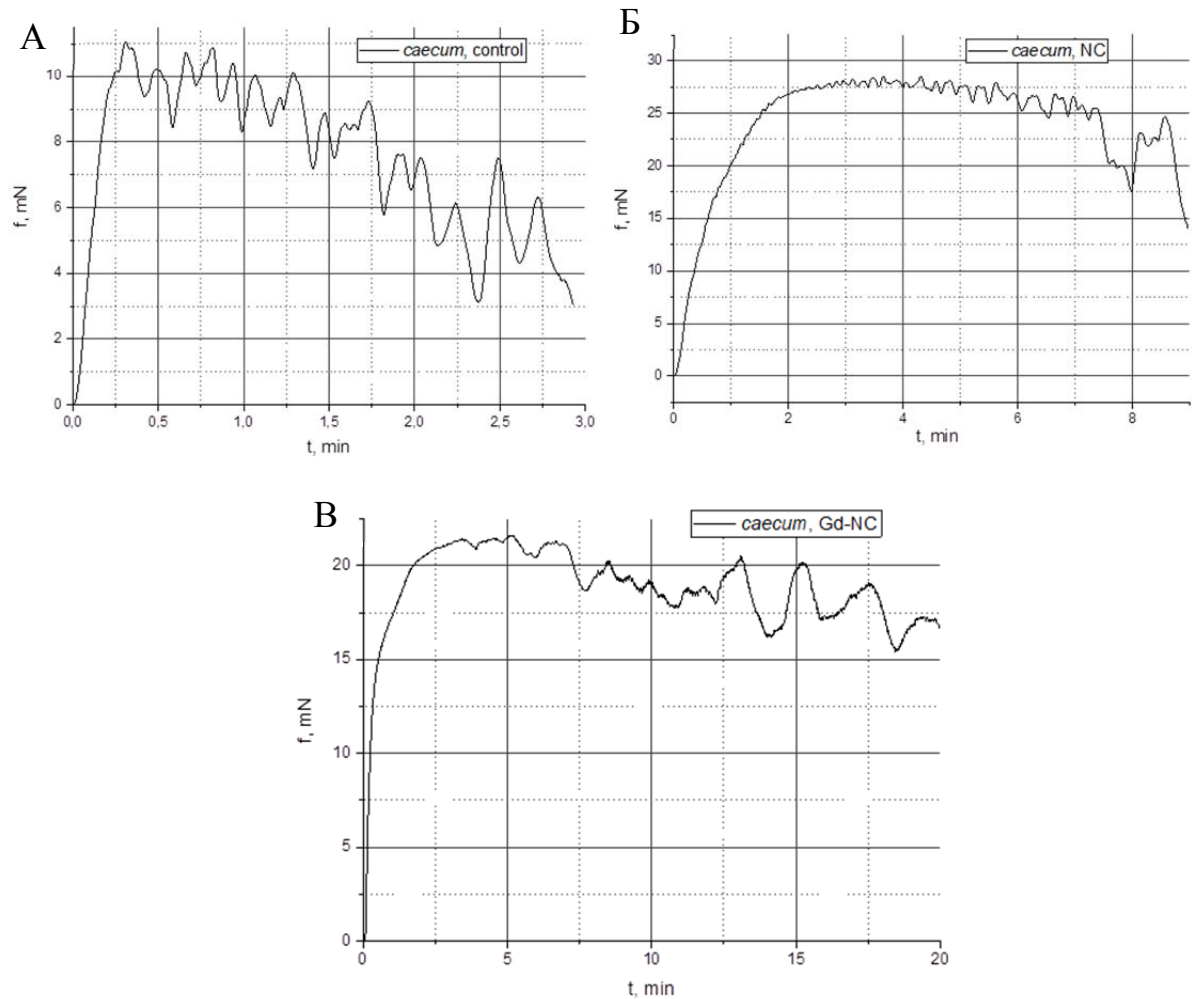


Рис. 4.12. – Викликані карбахоліном (10 мкМ) скорочення кільцевих гладеньких м'язів *caecum* щурів: А – у контролі; Б, В – яким за 1 годину до початку дослідження моторики внутрішньовенно вводили NC та Gd-NC у дозі 10 мг/кг. Наведено типові механограми.

Тож органічні нанокompозити Gd-NC та NC спричиняють суттєву активацію холінорецептор-опосередкованої скорочувальної функції кільцевих гладеньких м'язів *antrum* і *caecum* щурів.

Висновки

У дипломній роботі було проведено дослідження спонтанних і викликаних активацією холінорецепторів скорочень кільцевих гладеньких м'язів стінок травного тракту (*antrum* і *caecum*) щурів, яким внутрішньовенно вводили суспензії органічних нанокompatитів з Gd^{3+} (Gd-NC) та вільних від Gd^{3+} нанокompatитів (NC).

1. Виявлено, що органічні нанокompatити загалом спричиняють модуляцію спонтанної скорочувальної активності гладеньких м'язів стінок травного тракту, зі зменшенням частоти і збільшенням амплітуди за рахунок формування складних скорочень.
2. Встановлено, що Gd-NC індукує значне посилення спонтанних скорочень *antrum* зі зростанням їх окремих механокінетичних параметрів: силових (F_{max} , F_C та F_R) – утричі щодо контролю, швидкісних (V_C і V_R) – у понад два рази щодо контролю, імпульсних (I_C , I_R та I_0) – у чотири рази щодо контролю.
3. Показано, що Gd-NC спричиняє підвищення швидкісних (V_C і V_R) параметрів, тоді як силові параметри високоамплітудних скорочень (F_{max} , F_C та F_R) залишалися на рівні контрольних.
4. Виявлено, що за присутності NC має місце суттєве зростання силових (F_{max} , F_C та F_R) та імпульсних (I_C , I_R та I_0) параметрів спонтанних скорочень *antrum*, тоді як швидкісні (V_C і V_R) параметри є достовірно меншими за контрольні.
5. Встановлено, що NC індукує зміни механокінетики спонтанних скорочень *caecum*: суттєве зростання силових (F_{max} , F_C та F_R) та імпульсних (I_C , I_R та I_0) параметрів.
6. Встановлено, що ін'єктування Gd-NC і NC призводить до суттєвого посилення карбахолін-індукованих скорочень гладеньких м'язів *antrum* і *caecum*. Це може бути одним із механізмів, за яким реалізується загальне активування моторики гладеньких м'язів стінок травного тракту за впливу органічних нанокompatитів.

Список джерел

1. van Beek, E. J., & Hoffman, E. A. (2008). Functional imaging: CT and MRI. *Clinics in chest medicine*, 29(1), 195–vii. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2007.12.003>
2. Wahsner, J., Gale, E. M., Rodríguez-Rodríguez, A., & Caravan, P. (2019). Chemistry of MRI Contrast Agents: Current Challenges and New Frontiers. *Chemical reviews*, 119(2), 957–1057. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00363>
3. Fatima, A., Ahmad, M. W., Al Saidi, A. K. A., Choudhury, A., Chang, Y., & Lee, G. H. (2021). Recent Advances in Gadolinium Based Contrast Agents for Bioimaging Applications. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 11(9), 2449. <https://doi.org/10.3390/nano11092449>
4. Механокінетика вісцеральних гладеньких м'язів та її модуляція наноматеріалами : [міждисциплінар. монографія] / С. О. Костерін, О. В. Цимбалюк; ред.: С. В. Комісаренко; Національна академія наук України, Інститут біохімії імені О. В. Палладіна, "Наукова книга", проєкт. - Київ : Наукова думка, 2022. - 302 с. - (Проєкт "Наукова книга"). - Бібліогр.: с. 251-293 - укр.
5. Yoneda, S., Kadowaki, M., Sugimori, S., Sekiguchi, F., Sunano, S., Fukui, H., & Takaki, M. (2001). Rhythmic spontaneous contractions in the rat proximal colon. *The Japanese journal of physiology*, 51(6), 717–723. <https://doi.org/10.2170/jjphysiol.51.717>
6. Kosterin, S., Tymbalyuk, O. & Holden, O. (2021). Multiparameter analysis of mechanokinetics of the contractile response of smooth muscles. *Series on Biomechanics* 35(1), 14-30. <http://dx.doi.org/10.30970/sbi.1502.652>
7. Yoneda, S., Fukui, H., & Takaki, M. (2004). Pacemaker activity from submucosal interstitial cells of Cajal drives high-frequency and low-amplitude circular muscle contractions in the mouse proximal colon. *Neurogastroenterology and motility*, 16(5), 621–627. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2004.00546.x>