

На правах рукописи

Зайцева Татьяна Николаевна

**СОКРАТИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЛАДКИХ МЫШЦ
ВОЗДУХОНОСНЫХ ПУТЕЙ
В ПРИСУТСТВИИ НАНОРАЗМЕРНЫХ ЧАСТИЦ**

03.03.01 – физиология

**Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Томск – 2016

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Носарев Алексей
Валерьевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник
отделения популяционной кардиологии с группой
научно-медицинской информации, патентоведения и
международных связей Федерального государственного
бюджетного научного учреждения «Научно-
исследовательский институт кардиологии»

Анфиногорова
Яна Джоновна

доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный
деятель науки РФ, заведующий лабораторией
иммунофизиологии и иммунофармакологии
Федерального государственного бюджетного учреждения
науки «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук

Юшков Борис
Германович

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины»

Защита состоится "27" мая 2016г. в 11:00 на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при Сибирском государственном медицинском университете (634050 г. Томск, Московский тракт, 2).

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России и на сайте <http://www.ssmu.ru>

Автореферат разослан "27" февраля 2016 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Петрова Ирина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Одной из актуальных проблем современной физиологии является изучение сократительных свойств гладких мышц (ГМ) внутренних органов. Несмотря на большой объем сведений, до сих пор малоизученными остаются механические свойства гладкомышечных клеток воздухоносных путей, механизмы локальной и дистантной регуляции сократительной активности, роль эпителия и клеток микроокружения. Определенный интерес представляет изучение сократительной активности гладких мышц воздухоносных путей, опосредованной действием физиологически активных веществ, а также в условиях формирования их дисфункций (Баскаков М.Б., 1996; Hee S.P., 2010).

В настоящее время среди множества возможных причин развития гиперреактивности воздухоносных путей не последнюю роль отводят ингаляционному воздействию наноразмерных материалов, поскольку инспираторный путь попадания наночастиц в организм представляется наиболее вероятным. В связи с этим, большое количество исследований сконцентрировано на возможных последствиях ингаляции наночастицами (Andre Nel, 2013; Hedwig M. Braakhuis, 2014).

Степень проработанности темы. Основные изменения, возникающие при действии наноматериалов на биообъект, широко представлены в литературе (Gheshlaghi Z.N., 2008, Soenen S.J., 2010, Nagarjun K., 2014). Используя инспираторный способ введения наноматериала, оценивают участие наночастиц в индуцировании воспаления, развития респираторных и сердечно-сосудистых заболеваний (Stone V., 2007). Воздействием наноразмерных частиц стимулируются выработка маркеров воспаления, формирование окислительного стресса, изменение свойств мембраны, а также нарушение функционирования ряда внутриклеточных структур, в частности элементов цитоскелета (Tian X., 2008; Ahamed M., 2013; Wei-Te Wu, 2014), что в комплексе и является причиной изменения метаболизма клеток воздухоносного тракта.

Внутриклеточный оксидантный стресс считают одним из ключевых механизмов токсичности многих наноматериалов (Klaine S.J., 2008). Одной из причин повышенного количества активных форм кислорода может являться непосредственное воздействие наночастиц на эпителий воздухоносных путей и эндотелий сосудов, что ведет к последующей активации NO-синтазы и накоплению пероксинитрита.

Одним из начальных этапов повреждения клеток, вызванного окислительным стрессом, является диссоциация белков цитоскелета (Valen G., 1999). Известно, что в сосудах гладкомышечных клетках цитоскелет выполняет роль пространственного регулятора внутриклеточной сигнализации. Таким образом, реорганизацию цитоскелета можно рассматривать, как одну из причин изменения функциональной активности сигнальных молекул, что, в свою очередь, опосредует изменения сократительной активности (Worth N.F., 2001).

Кроме того, показано, что ингалированные наночастицы могут транспортироваться по эпителию воздухоносных путей и вызывать высвобождение воспалительных маркеров (Brandenberger C., 2009; Niwa Y., 2008). Наноразмерные частицы при этом могут подвергаться эндоцитозу эпителиоцитами (Blank F., 2006; Geiser M., 2005).

Несмотря на широкий интерес к изучению наноматериалов, просматривается недостаточное понимание физических и химических процессов, а также биологических последствий взаимодействия наноструктур с биологическими объектами. Поэтому проведение дополнительных исследований будет способствовать уточнению механизмов действия наночастиц на сократительную функцию гладких мышц, а также дополнит существующие представления о роли ряда биологически активных веществ в обеспечении регуляции реактивности бронхов. Кроме этого, выяснение механизмов регуляции гладких мышц внутренних органов является одной из актуальных задач, рассматриваемых в биологии и медицине, решение которой обеспечит создание основы для разработки молекулярных подходов к коррекции их функционирования.

Цель работы. Изучить сократительную активность гладких мышц воздухоносных путей морских свинок при воздействии наноразмерных частиц.

Задачи исследования:

1. Изучить гистаминэргическую, холинэргическую и адренэргическую регуляцию механического напряжения гладких мышц воздухоносных путей морских свинок при ингаляционном введении наноразмерных частиц.
2. Исследовать гистаминэргическую, холинэргическую и адренэргическую регуляцию механического напряжения гладких мышц воздухоносных путей морских свинок при воздействии наноразмерных частиц *in vitro*.
3. Определить влияние бронхиального эпителия на гистаминэргические и холинэргические сократительные ответы гладких мышц воздухоносных путей при действии наноразмерных частиц.

Научная новизна

Впервые показано, что сократительные ответы гладких мышц на гистаминэргические и холинэргические воздействия усиливаются при ингаляционном поступлении наноразмерных частиц. При этом адренэргическое расслабление зависит от предсокращающего фактора: реакция на сальбутамол усиливается на фоне предсокращения гистамином и угнетается в условиях предсокращения гиперкалиевым раствором Кребса. Выявленные изменения не зависят от химической природы наноразмерных частиц.

Впервые показана зависимость изменения сократительных ответов гладкомышечных сегментов воздухоносных путей на холин-, гистамин- и адренэргические воздействия в присутствии взвеси наноразмерных частиц *in vitro* от химической природы этих частиц. При интактном эпителии феррит кобальта угнетает холинэргические, а магнетит – гистаминэргические

сократительные реакции. При этом магнетит потенцирует адренэргическое расслабление на фоне предсокращения гиперкалиевым раствором Кребса в отсутствие эпителия.

Впервые исследовано изменение сократительных ответов гладкомышечных сегментов воздухоносных путей на гистаминэргические и холинэргические воздействия в условиях сохранного и удаленного эпителия. При обработке сегментов взвесью наноразмерных частиц *in vitro* влияние эпителия на величину сократительного ответа гладкомышечных клеток сохраняется, тогда как при ингаляционном поступлении наноразмерных частиц влияние эпителия на сократительные реакции снижается.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования являются вкладом в развитие фундаментальных знаний об адренэргической, холинэргической и гистаминэргической регуляции функций гладких мышц воздухоносных путей. Полученные данные дополняют представления о сократительных реакциях гладкомышечных клеток воздухоносных путей в условиях воздействия наноразмерных частиц.

Результаты исследования могут оказаться перспективными для разработки комплексной оценки влияния наноматериалов на организм. Изучение характера изменений функционирования биообъектов при данном воздействии может послужить теоретической основой для разработки и модернизации технологий фармакологического внедрения наноразмерных материалов, профилактики и прогнозирования течения и исходов заболеваний легочной системы, возникающих в результате воздействия наночастиц.

Основные положения работы используются в курсах лекций и практических занятиях, проводимых на кафедре биофизики и функциональной диагностики Сибирского государственного медицинского университета, на кафедре медико-биологических дисциплин Томского государственного педагогического университета, в исследовательском процессе лаборатории атмосферной абсорбционной спектроскопии ИОА СО РАН. Областями применения полученных данных являются физиология, биофизика.

Положения, выносимые на защиту

1. Сократительные реакции гладких мышц воздухоносных путей на гистаминэргическое и холинэргическое воздействие усиливаются при ингаляционном поступлении наноразмерных частиц. Величина адренэргического расслабления зависит от предсокращающего фактора: реакция на сальбутамол усиливается в условиях предсокращения гистамином и угнетается в условиях предсокращения гиперкалиевым раствором Кребса.

2. При введении наноразмерных частиц *in vitro* изменения сократительных реакций гладких мышц воздухоносных путей на гистамин-, холин- и адренэргическое воздействие разнонаправлено и зависит от вида наноматериала и сохранности эпителия.

3. В присутствии эпителия воздухоносных путей происходит угнетение сократительных реакций гладкомышечных сегментов на гистаминэргические и холинэргические воздействия. Указанный эффект эпителия сохраняется при обработке сегментов взвесью наноразмерных частиц *in vitro*, но подавляется при их ингаляционном поступлении.

Апробация работы

Основные результаты, представленные в диссертации, представлены на всероссийских и международных конгрессах: •XV рабочая группа "Аэрозоли Сибири" Томск, 2008г.; •X конгресс с международным участием молодых ученых и специалистов "Науки о человеке" Томск, 2009г.; •Научная конференция с международным участием, посвященная 120-летию кафедры нормальной физиологии СибГМУ (ТМИ) и кафедры физиологии ТГУ Томск, 2009г.; •V Международная Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых, Москва, 2010 г.; •XI конгресс с международным участием молодых ученых и специалистов "Науки о человеке" Томск, 2010г.; • XXXVIII заочная научная конференция International Research Journal, Екатеринбург, 2015г.; •Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы науки на современном этапе развития», Стерлитамак, 2015г.

Исследования поддержаны грантом РФФИ – «Разработка технологии контроля оценки повреждающего действия различных наноматериалов при ингаляционном поступлении» (№09-04-99124-р_офи).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 20 научных работ, в том числе 9 в журналах и изданиях, определенных ВАК РФ.

Структура диссертации

Диссертация изложена на 104 страницах машинописного текста. В структуре представлены главы: введение, обзор литературы, «Материалы и методы», собственные результаты и их обсуждение, заключение. Библиография состоит из 148 ссылок, из них 32 – работы отечественных авторов. Работа иллюстрирована 28 рисунками.

Личное участие автора

Основные результаты исследования, вошедшие в диссертацию, получены лично автором. Анализ литературных данных по теме диссертации, статистическая обработка полученных результатов, их научный анализ, обсуждение и написание диссертации выполнены самостоятельно автором.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Концентрационные характеристики аэрозолей, содержащих наноразмерные структуры. Для определения параметров ингаляций животных аэрозолями, содержащими наночастицы, предварительно провели исследование эффективности генерации аэрозольных частиц. По стандартной спектрофотометрической схеме, на стенде ИОА СО РАН, провели измерения пропускания воздушно-аэрозольными смесями лазерного излучения длиной волны 0,63 мкм. В качестве генератора аэрозоля использовали ультразвуковой небулайзер «Муссон-1М». По пропусканию воздушно-аэрозольным слоем лазерного излучения определили эффективность генерации. Критерием считали пропускание аэрозоля полученного из дистиллированной воды, используемой для приготовления растворов наночастиц. На основании проведенного исследования определили концентрацию исходных растворов наночастиц и режим работы генератора.

Объект исследования: деэпителизированные и интактные гладкомышечные сегменты воздухоносных путей 78 морских свинок-самцов.

Подготовка гладкомышечных препаратов. Для изучения влияния нанопорошков на сократительные реакции гладких мышц, при поступлении их *in vivo*, животных делили на группу контроля и три экспериментальные группы, в зависимости от вида ингалируемых наночастиц: феррит кобальта (CoFe_2O_4), магнетит (Fe_3O_4) и диоксид олова (SnO_2). Ингаляцию нанопорошком проводили ежедневно в течение 30 минут (курс 4 дня). Животных контрольной группы ингалировали дистиллированной водой по аналогичной схеме. Воздухоносные пути – трахею и главные бронхи отпрепаровывали от соединительной ткани, жира и легочной паренхимы в ванночке с раствором Кребса при комнатной температуре. Для изучения сократительной активности приготавливали кольцевые сегменты длиной 3-4 мм. При необходимости эпителий удаляли механически. Для изучения влияния нанопорошков при действии их *in vitro*, в рабочую камеру, в которой находились изолированные гладкомышечные сегменты, добавляли раствор исследуемых наночастиц.

Исследование сократительной активности гладкомышечных сегментов воздухоносных путей морских свинок. Сегменты закрепляли на крючках в рабочей камере, объемом 4 мл, заполненной аэрируемым, термостатируемым раствором Кребса. Растягивали нагрузкой 500 мг, фиксировали на штоках механоэлектрических преобразователей. В качестве механоэлектрического преобразователя использовали датчик силы FT10G, что позволяло проводить эксперимент в условиях, близких к изометрическим. Сигнал, поступивший с датчиков, подается на АЦП и регистрируется с помощью персонального компьютера.

Эффекты биологически активных веществ оценивали в процентах от амплитуды контрольного сокращения сегментов (принимали за 100%) на стандартную концентрацию KCl , которая составляла 40 мМ. По результатам тестирования строили кривые “доза-эффект”.

Используемые растворы. Растворы приготавливали на основе дистиллированной воды. Нормальный раствор Кребса: NaCl – 120,4мМ; KCl – 5,9мМ; MgCl₂ – 1,2мМ; CaCl₂ – 2,5мМ; глюкоза – 11,5мМ; трис(оксиметил)-аминометан - 15,5мМ. Все соли для приготовления раствора Кребса – ХЧ (Реахим, РФ). рН растворов поддерживали в пределах 7,4±0,05 при температуре 34⁰С.

Используемые реактивы. трис(оксиметил)-аминометан (China), гистамин (ICN Biomedicals, Inc., США), карбахолин (ICN Biomedicals, Inc., США), сальбутамол (Sigma, Франция). Нанопорошки феррита кобальта (CoFe₂O₄), магнетита (Fe₃O₄) и диоксида олова (SnO₂) получены методом механохимического синтеза из солевых систем на базе отдела структурной макрокинетики ТНЦ СО РАН.

Статистическая обработка.

Анализ полученных данных проводили с использованием программы Statistica 6.0 for Windows фирмы Statsoft. Все данные представлены в виде $M \pm m$, где принято M – среднее, m – ошибка среднего. Статистически значимым считали различия при $p < 0,05$. Далее по тексту принято: n – объем группы, p – уровень значимости.

Для определения характера распределения полученных данных использовали критерий нормальности Колмогорова-Смирнова. Сформированные выборки не подчинялись закону нормального распределения, поэтому для проверки статистических гипотез были использованы непараметрические критерии.

Для проверки гипотезы об однородности двух независимых выборок использовали U-критерий Манна-Уитни. Для проверки однородности парных или зависимых, выборок был использован T-критерий Вилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Механическое напряжение гладких мышц воздухоносных путей в условиях ингаляционного введения наночастиц

1.1. Особенности холинэргической регуляции сократительных реакций гладких мышц воздухоносных путей морских свинок при ингаляционном введении наночастиц феррита кобальта, магнетита и диоксида олова

Для оценки особенностей холинэргической регуляции сократительных реакций ГМ использовали карбахолин в диапазоне концентраций 0,01мкМ-10мкМ. При действии карбахолина сегменты всех исследуемых групп отвечали дозозависимым сокращением. При сравнении величины амплитуд сокращений интактных сегментов ВП морских свинок ингалированных аэрозолями, содержащими наночастицы феррита кобальта и магнетита с сегментами ВП контрольной группы на действие карбахолина, выяснили что различия в величинах механического напряжения являются статистически значимыми в диапазоне концентраций 0,1–10мкМ ($p < 0,05$) (рис. 1).

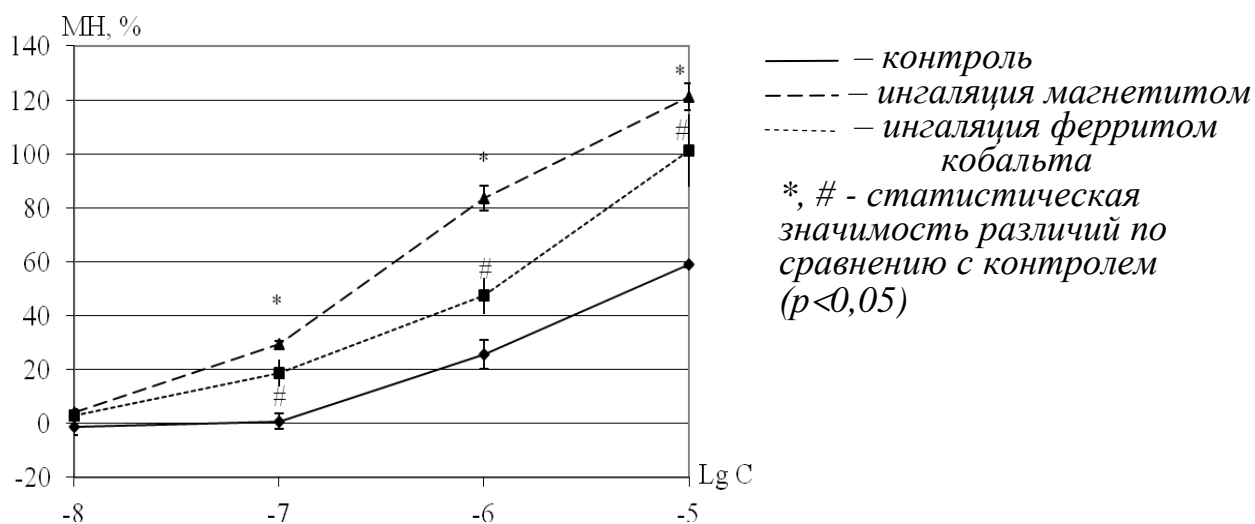


Рис.1. Зависимость механического напряжения интактных гладкомышечных сегментов бронхов морских свинок от концентрации карбахолина. По оси ординат – механическое напряжение в процентах (МН, %). По оси абсцисс – десятичный логарифм концентрации действующего вещества.

При этом величина механического напряжения сегментов экспериментальных групп больше контрольной. При действии карбахолина на деэпителизированные сегменты наибольшую амплитуду сокращения наблюдали у сегментов полученных от животных, ингалированных магнетитом, повышение являлось статистически значимым в области концентраций 0,01–10мкМ ($p < 0,05$). Статистически значимых различий между амплитудами сократительных ответов группы контроля и сегментов животных ингалированных диоксидом олова и ферритом кобальта выявлено не было (рис. 2). Кроме того, отмечали снижение величины EC_{50} , по сравнению с контрольными группами.

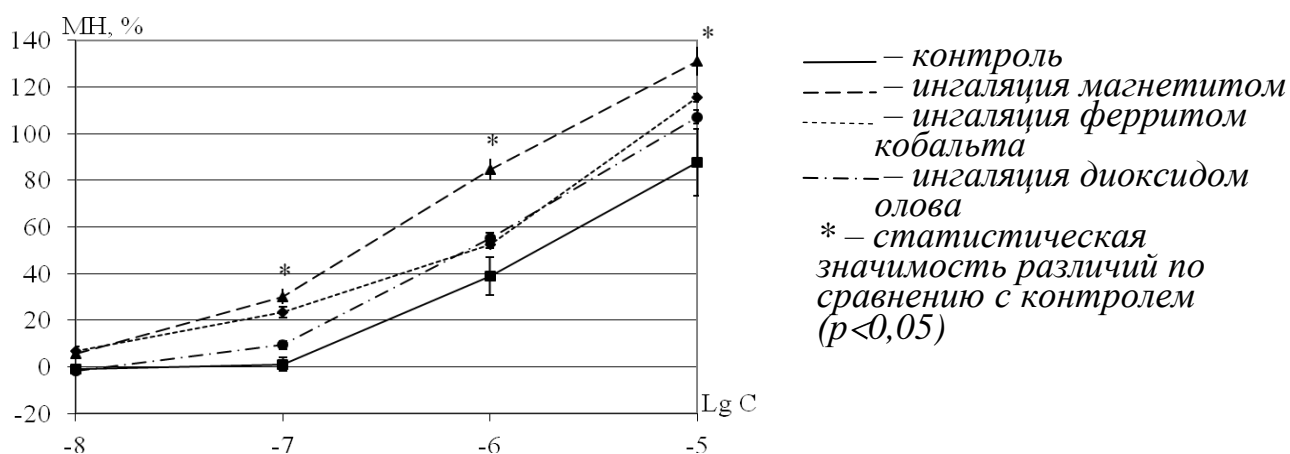


Рис.2. Зависимость механического напряжения деэпителизированных гладкомышечных сегментов бронхов морских свинок от концентрации карбахолина. Обозначения осей, как на рисунке 1.

Изменение амплитуды сократительных реакций изолированных гладких мышц воздухоносных путей на воздействие карбахолина может объясняться изменением количества холинорецепторов, а так же увеличением чувствительности к агонистам, о чем свидетельствует снижение

величины EC_{50} в экспериментальных группах. Однако, ввиду малой изученности возможных изменений рецепторного поля при вдыхании наночастиц нельзя исключить и другие механизмы формирования гиперреактивности и повышенной чувствительности к агонистам.

1.2. Особенности гистаминергической регуляции сократительных реакций гладких мышц воздухоносных путей при ингаляционном введении наночастиц феррита кобальта, магнетита и диоксида олова

Изучили влияние гистамина в концентрациях 0,01мкМ – 10мкМ на сократительную активность сегментов бронхов морских свинок. При данном виде воздействия сегменты всех исследуемых групп отвечали дозозависимым сокращением. Сегменты, полученные от животных, ингалированных нанопорошком феррита кобальта или магнетита, отвечали дозозависимым сокращением при добавлении гистамина в концентрациях 0,1–10мкМ. Максимальная амплитуда сокращения интактных сегментов составила $75,52 \pm 11,22\%$ ($n=6$), $EC_{50}=2,64\text{мкМ}$ (при ингаляции ферритом кобальта) и $41,59 \pm 10,47\%$ ($n=6$) (при ингаляции магнетитом) (рис. 3).

При действии гистамина на деэпителизированные сегменты наибольшую амплитуду сокращения наблюдали у сегментов полученных от животных, ингалированных диоксидом олова $112,34 \pm 5,95\%$ ($n=6$, $p<0,05$) (рис. 4). Так же статистически значимыми стали различия величин механического напряжения сегментов, полученных от животных ингалированных ферритом кобальта ($p<0,05$). Достоверных различий между амплитудами сократительных ответов группы контроля и сегментов животных ингалированных магнетитом выявлено не было.

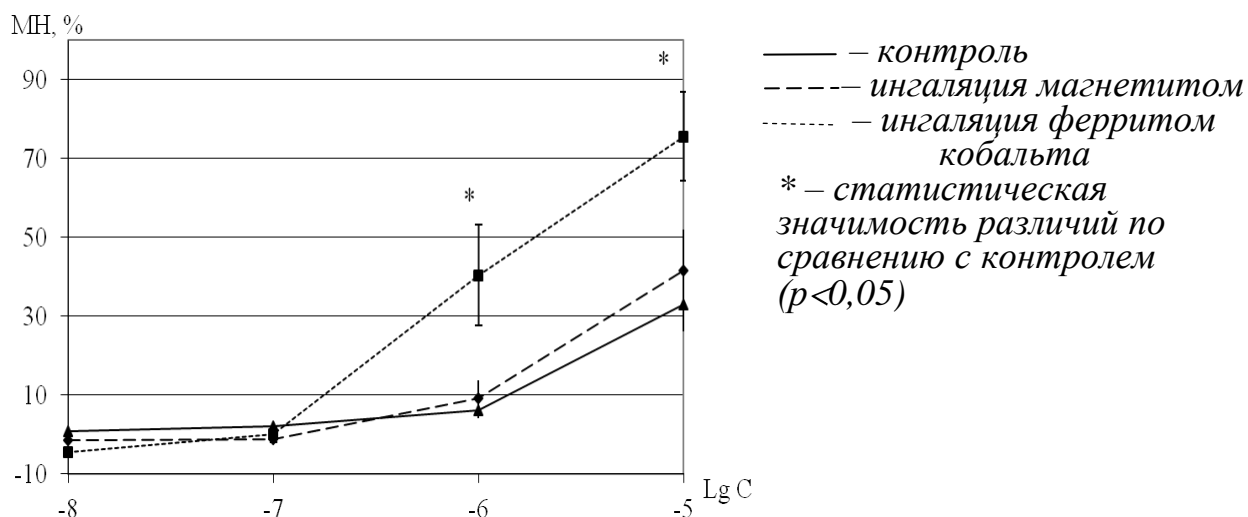


Рис.3. Зависимость механического напряжения интактных гладкомышечных сегментов бронхов морских свинок от концентрации гистамина. Обозначения осей, как на рисунке 1.

Амплитуда сокращения деэпителизированных сегментов, выделенных от ингалированных животных, была выше амплитуды сокращения деэпителизированных сегментов контрольной группы. Возрастание максимальной амплитуды сокращения интактных сегментов ингалированных животных по сравнению с контролем может свидетельствовать о повреждении эпителия воздухоносных путей, вследствие чего наночастицы

способны в большей степени оказывать воздействие на ГМК. С другой стороны это может быть вызвано более малым количеством факторов расслабления, нарабатываемых эпителием.

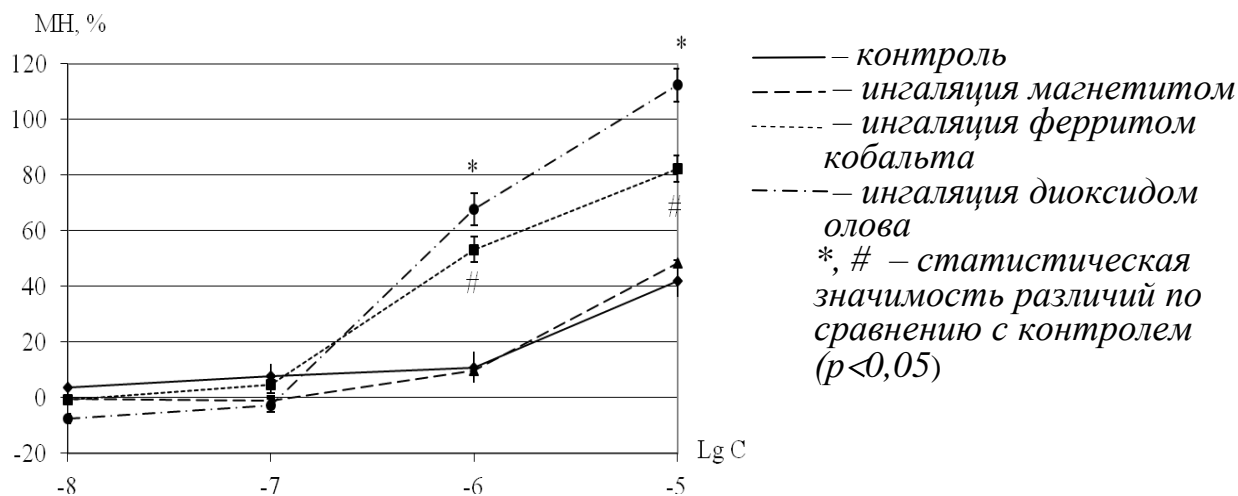


Рис.4. Зависимость механического напряжения дезэпителизированных гладкомышечных сегментов бронхов морских свинок от концентрации гистамина. Обозначения осей, как на рисунке 1.

1.3. Особенности адренэргической регуляции сократительной активности гладких мышц воздухоносных путей при ингаляционном введении наночастиц феррита кобальта, магнетита и диоксида олова

Адренэргическую регуляцию ГМ изучали при действии агониста β_2 -адренорецепторов сальбутамола в концентрации 0,01мкМ – 10мкМ.

При влиянии сальбутамолом (на фоне предсокращения раствором Кребса) на дезэпителизированные сегменты морских свинок контрольной группы сегменты отвечали дозозависимым расслаблением. Сегменты животных, ингалированных аэрозолями, содержащими наночастицы, также отвечали дозозависимым расслаблением при действии сальбутамола. Величина амплитуды расслабления сегментов группы контроля ($83,21 \pm 5,61\%$ ($n=19$)) была более выражена по сравнению с экспериментальными группами ($93,80 \pm 4,95\%$ - ингаляции ферритом кобальта ($n=6$), $96,67 \pm 2,81\%$ - магнетитом ($n=6$), $97,04 \pm 1,29\%$ – диоксидом олова ($n=6$)). Эти различия не являлись статистически значимыми (рис. 5).

Также изучили влияние сальбутамола на механическое напряжение ГМ на фоне предсокращения гистамином. Предсокращение проводили, используя гистамин в концентрациях, вызывающих полумаксимальное сокращение сегментов. Дезэпителизированные сегменты контрольной группы, предсокращенные гистамином, на воздействие 0,01мкМ–10мкМ сальбутамола отвечали дозозависимым расслаблением. Максимальная амплитуда расслабления составила $-6,22 \pm 2,68\%$ ($EC_{50}=0,022\text{мкМ}$, $n=10$) в ответ на действие сальбутамола в концентрации 10мкМ (рис.6).

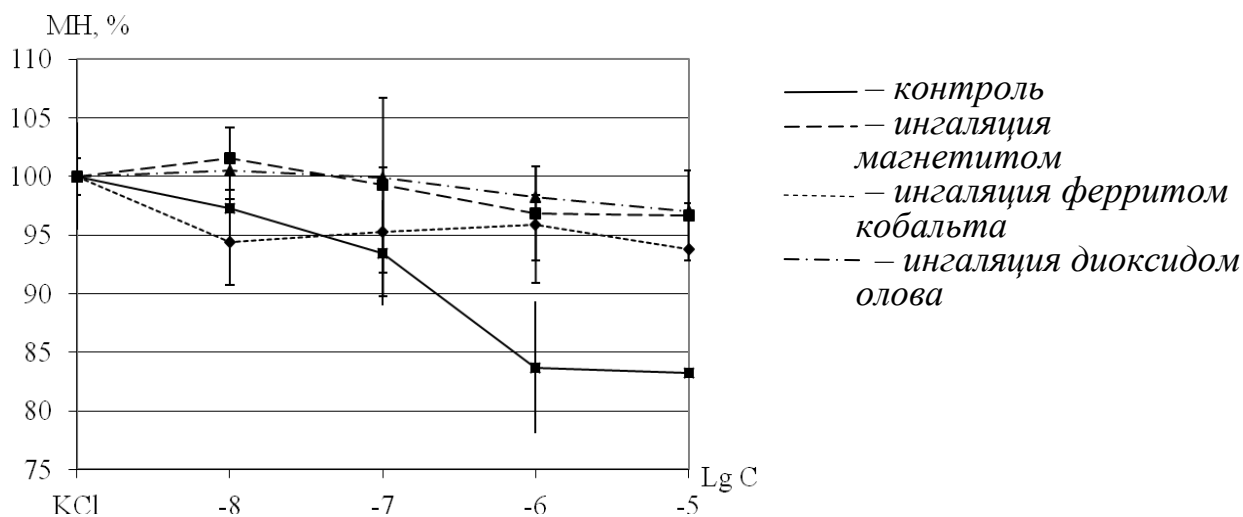


Рис. 5. Зависимость механического напряжения деэпителизированных гладкомышечных сегментов бронхов морских свинок, предсокращенных гиперкалиевым раствором Кребса, от концентрации сальбутамола. Обозначения осей, как на рисунке 1.

Величина механического напряжения сегментов ВП животных, ингалированных аэрозолем, содержащим наночастицы феррита кобальта, статистически значимо отличалось от контрольного при действии сальбутамола в диапазоне концентраций 10–1мкМ и достигало значения - $47,55 \pm 8,76\%$ $EC_{50} = 0,088 \text{ мкМ}$ ($n=9$, $p < 0,05$).

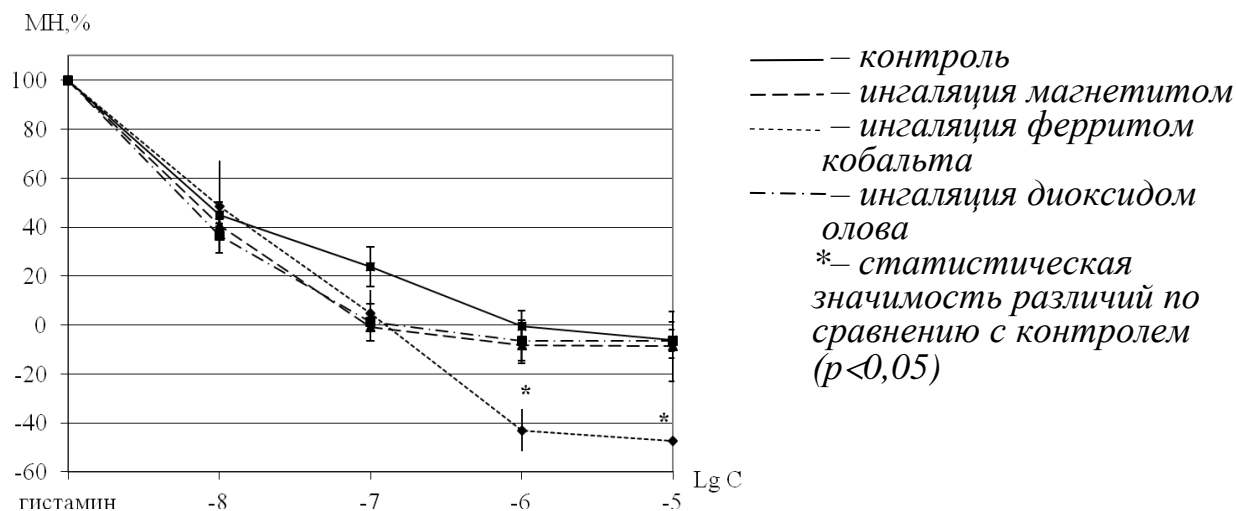


Рис. 6. Зависимость механического напряжения деэпителизированных гладкомышечных сегментов бронхов морских свинок, предсокращенных гистамином, от концентрации сальбутамола. Обозначения осей, как на рисунке 1.

2. Механическое напряжение гладких мышц воздухоносных путей в условии введения наночастиц *in vitro*

2.1. Особенности холинэргической регуляции сократительных реакций гладких мышц воздухоносных путей морских свинок при действии наночастиц феррита кобальта, магнетита и диоксида олова *in vitro*

При сравнении величины механического напряжения интактных

сегментов группы контроля и сегментов, обработанных нанопорошком феррита кобальта в условиях *in vitro*, наблюдали статистически значимые различия величины амплитуды сокращения в диапазоне концентраций карбахолина 1–10мкМ ($p < 0,05$) (рис. 7). При этом механическое напряжение сегментов группы контроля было выше, величина EC_{50} была ниже (4,34мкМ), чем в экспериментальной группе (5,57мкМ).

Интактные сегменты, обработанные магнетитом *in vitro*, напротив, развивали механическое напряжение большее по величине, чем сегменты контрольной группы. Данные различия являлись статистически значимыми в диапазоне концентраций гистамина 0,1–10мкМ ($p < 0,05$), величина EC_{50} составила 2,11мкМ.

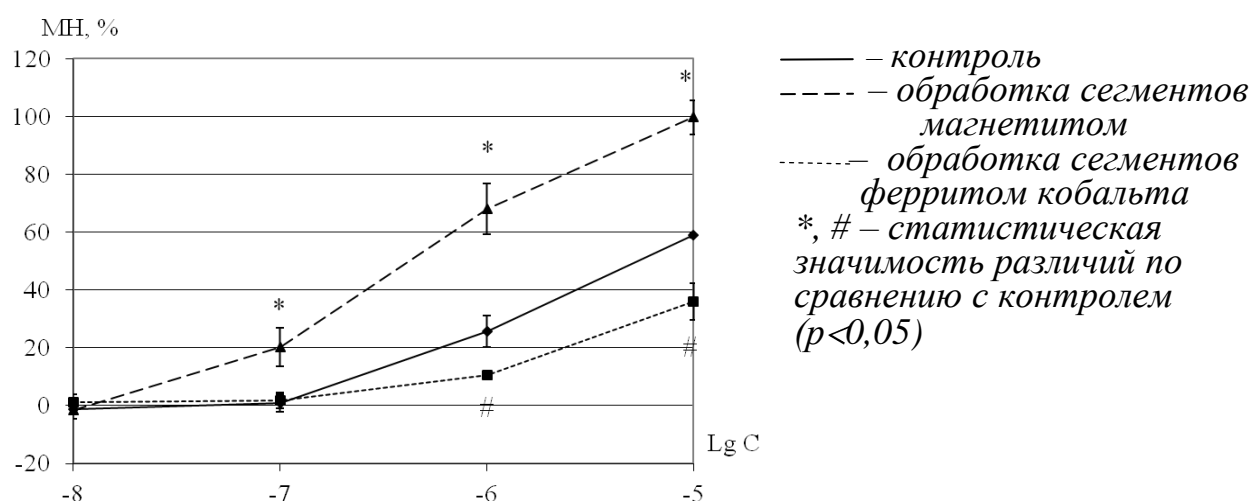


Рис. 7. Зависимость механического напряжения интактных гладкомышечных сегментов бронхов морских свинок от концентрации карбахолина. Обозначения осей, как на рисунке 1.

Амплитуда сокращения деэпителизированных сегментов экспериментальных групп различается незначительно, статистически значимые различия наблюдали, исследуя сегменты, обработанные магнетитом и диоксидом олова, при действии на них карбахолина в концентрациях 0,1–1мкМ ($p < 0,05$) (рис.8).

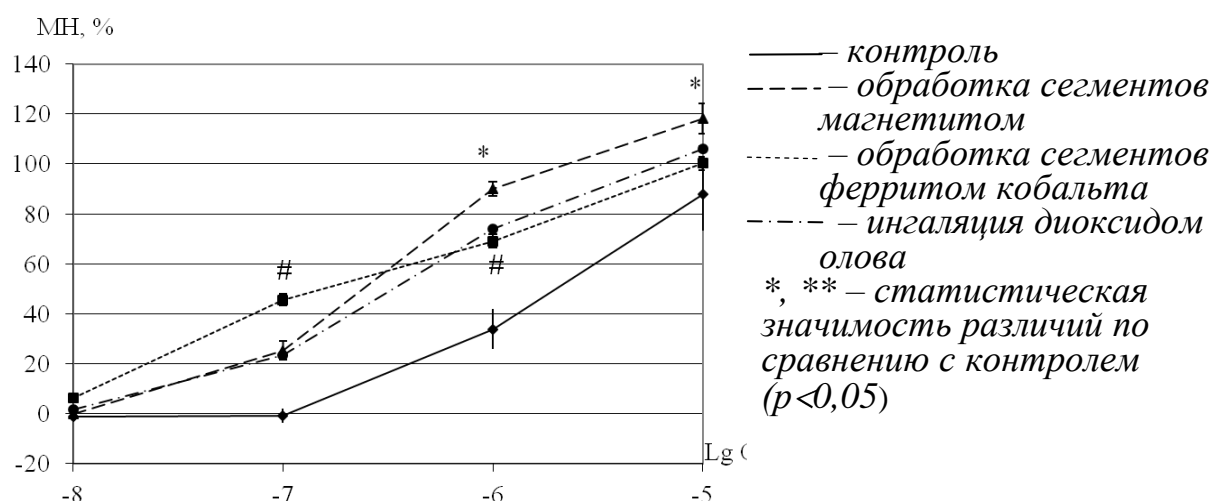


Рис.8. Зависимость механического напряжения деэпителизированных гладкомышечных сегментов бронхов морских свинок от концентрации карбахолина. Обозначения осей, как на рисунке 1.

Таким образом, различия механического напряжения интактных и деэпителизированных сегментов, при обработке нанопорошком *in vitro*, являются более значимыми, чем при ингаляционном введении наночастиц. Это может быть связано с тем, что в данном случае не происходило прижизненного повреждения эпителия ВП, и в условиях воздействия карбахолом эпителий обеспечивал выработку достаточного количества факторов расслабления.

Интактные сегменты, обработанные магнетитом и ферритом кобальта, проявили противоположную направленность изменения сократительной активности по отношению к контролю, что дает основания полагать о влиянии состава нанопорошков на механизм или степень изменений клеточного функционирования.

Деэпителизированные сегменты, обработанные наночастицами феррита кобальта, магнетита и диоксида олова имели малую величину различий амплитуды сокращений, при этом сегменты группы контроля развивали сократительный ответ меньшей силы. Повышение уровня сократительного ответа и снижение величины EC_{50} позволяет предполагать об увеличении биодоступности БАВ вследствие его взаимодействия с наночастицами в рабочем растворе и увеличения адгезивных свойств, либо вследствие изменения структуры мембраны ГМК или ее компонент при действии наноматериала. Кроме того, данные изменения могут быть обусловлены действием наночастиц на компоненты цитоскелета и возможным изменением регуляции сигнальных путей, задействованных в развитии сокращения ГМ.

2.2. Особенности гистаминэргической регуляции гладких мышц воздухоносных путей при действии наночастиц феррита кобальта, магнетита и диоксида олова *in vitro*

При сравнении величин механического напряжения сегментов группы контроля и сегментов обработанных нанопорошками, выяснили, что амплитуда сокращения интактных и деэпителизированных сегментов обработанных наночастицами $CoFe_2O_4$ была выше контрольной ($p < 0,05$) (рис.9, 10). Амплитуды сокращения сегментов, обработанных магнетитом (интактные и деэпителизированные) и диоксидом олова (с удаленным эпителием) мало отличались от силы сокращения сегментов группы контроля. При этом величина амплитуды сокращения интактных сегментов, обработанных магнетитом, была ниже контрольной, тогда как во всех остальных случаях амплитуды сокращения изменялись в сторону увеличения.

Снижение сократительной активности (по сравнению с контрольной группой) интактных сегментов, обработанных магнетитом и повышение при обработке ферритом кобальта, позволяет сделать предположение, что механизм действия или последствия взаимодействия ткани с наночастицами может зависеть от специфических свойств исследуемого материала, обусловленных химическим составом. Возможно, присутствие различных

ионов в составе наночастиц обуславливает скорость проникновения наноматериала через неповрежденный эпителий ВП, либо изменение интенсивности наработки факторов расслабления в сторону увеличения или уменьшения.

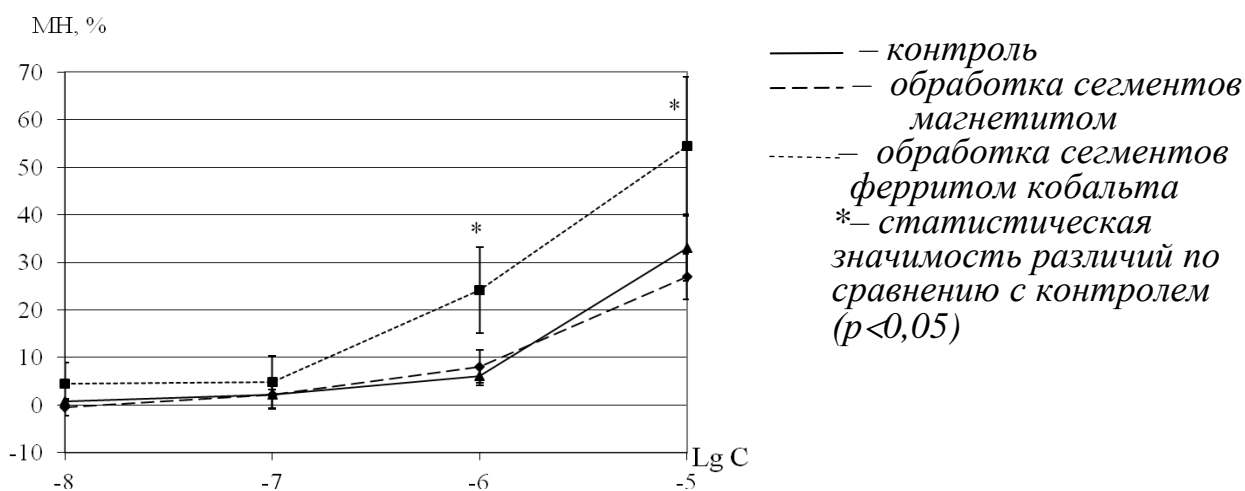


Рис.9. Зависимость механического напряжения интактных гладкомышечных сегментов бронхов морских свинок от концентрации гистамина. Обозначения осей, как в рисунке 1.

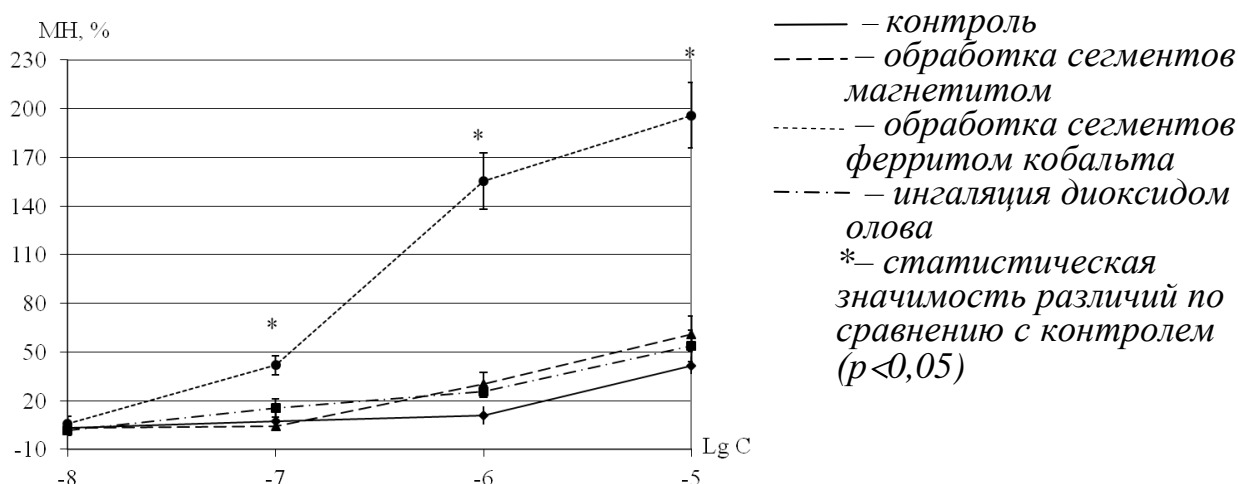


Рис. 10. Зависимость механического напряжения дезэпителизированных гладкомышечных сегментов бронхов морских свинок от концентрации гистамина. Обозначения осей, как в рисунке 1.

Дезэпителизированные сегменты, обработанные наночастицами магнетита и диоксида олова, имели малую величину различий амплитуды сокращений, при этом сегменты группы контроля развивали сократительный ответ меньшей силы. В то же время, при действии феррита кобальта, сокращение было значительно больше контрольного. Это так же может подтверждать зависимость биологического ответа от химического состава наноматериала. Повышение уровня сократительного ответа и снижение величины EC_{50} позволяет предполагать об увеличении биодоступности БАВ вследствие его взаимодействия с наночастицами в рабочем растворе и,

увеличения адгезивных свойств, либо вследствие изменения структуры мембраны ГМК или ее компонент при действии наноматериала.

2.3. Особенности адренэргической регуляции гладких мышц воздухоносных путей при взаимодействии с наноматериалом *in vitro*

При действии сальбутамола (на фоне предсокращения гиперкалиевым раствором Кребса) на деэпителизированные сегменты морских свинок контрольной группы наблюдали дозозависимое расслабление. Наибольшее расслабление отмечали при воздействии сальбутамола в концентрации 10мкМ, величина механического напряжения составила $83,21 \pm 5,61\%$ от амплитуды предсокращения (n=19).

На воздействие сальбутамолом на сегменты ВП обработанные наночастицами *in vitro* так же наблюдали дозозависимое расслабление до $85,01 \pm 5,15\%$ – при обработке ферритом кобальта (n=6), $68,54,46 \pm 6,59\%$ – магнетитом (n=5), $92,46 \pm 0,78\%$ – диоксидом олова (n=6). Различия значений величины механического напряжения сегментов группы контроля и сегментов, обработанных нанопорошками не являлись статистически значимыми

Деэпителизированные сегменты контрольной группы, предсокращенные гистамином, на воздействие 0,01мкМ–10мкМ сальбутамола отвечали дозозависимым расслаблением. Максимальная величина расслабления составила $-6,22 \pm 2,68\%$ ($EC_{50}=0,022$ мкМ, n=10) при действии сальбутамола в концентрации 10мкМ. На воздействие сальбутамола при добавлении наноматериала *in vitro* амплитуда расслабления сегментов, обработанных магнетитом ($-7,94 \pm 2,73\%$ $EC_{50}=0,09 \cdot 10^{-2}$ мкМ, n=4) статистически значимо не отличалась от контрольной, а так же это значение сопоставимо с амплитудой расслабления сегментов полученных от животных ингалированных этим наноматериалом. Введение *in vitro* наночастиц феррита кобальта и диоксида олова напротив вызвало меньшее по амплитуде расслабление ГМ ($88,43 \pm 14,26\%$ $EC_{50}=0,023$ мкМ n=12 и $26,25 \pm 8,05\%$ $EC_{50}=0,001$ мкМ n=3 соответственно) по сравнению с контрольной группой, а так же амплитудой расслабления сегментов животных ингалированных наноматериалом. При этом величина EC_{50} была меньше при добавлении наночастиц *in vitro* для всех видов исследуемых материалов.

Выяснили, что величина расслабления при действии сальбутамола зависит от вида предсокращающего агента. При использовании гистамина в качестве фактора предсокращения (по сравнению с гиперкалиевой контрактурой) наблюдали более выраженное расслабление во всех сформированных экспериментальных и контрольных группах. Полученные данные позволяют сделать предположение о том, что изменение механического напряжения может быть обусловлено способом воздействия наночастиц, их составом, возможностью непосредственного взаимодействия с БАВ и предсокращающим агентом в рабочем растворе. Что и ведет к изменению сродства рецепторов к агонисту, возможно, изменению

количества рецепторов, запускаемых эффекторных механизмов и как следствие изменению механического напряжения гладких мышц.

3. Исследование роли эпителия воздухоносных путей на сократительные реакции гладких мышц в присутствии наноразмерных структур

3.1. Участие эпителия в холинэргической регуляции сократительных реакций гладких мышц воздухоносных путей морских свинок

Карбахалин в концентрации 1–10 мкМ вызывал дозозависимое сокращение интактных сегментов контрольной группы. Максимум амплитуды сокращения составил $58,93 \pm 0,97\%$ (n=5). Деэпителизированные сегменты контрольной группы также развивали дозозависимое сокращение сегментов при действии агониста. При этом максимальная амплитуда была выше, чем у интактных сегментов и составила $87,74 \pm 14,3\%$ (n=8). Данные различия являлись статистически значимыми. Полученные данные позволяют предположить, что при холинэргической стимуляции бронхов эпителий может оказывать регулирующее действие на сокращение гладких мышц путем усиления выработки релаксирующих факторов либо снижения констрикторных.

Деэпителизированные сегменты воздухоносных путей животных ингалированных нанопорошком феррита кобальта развивали механическое напряжение большее по амплитуде, чем интактные $115,49 \pm 6,42\%$ (n=14) и $101,35 \pm 13,43\%$ (n=6) соответственно. При действии карбахалина на сегменты воздухоносных путей животных ингалированных магнетитом, наблюдали более высокие значения амплитуды сокращения при удалении эпителия $131,04 \pm 6,21\%$ (n=10), амплитуда сокращения интактных сегментов $121,16 \pm 6,21\%$ (n=14). Различия величин механического напряжения (в условиях ингаляционного введения наночастиц) не являлись статистически значимыми. Вероятно, подобные изменения могут быть вызваны снижением количества релаксирующего фактора, вырабатываемого эпителием воздухоносных путей. Возможно, это является следствием повреждения эпителия при ингаляции животных нанопорошком.

Исследовали изменение амплитуды сокращения интактных и деэпителизированных сегментов, обработанных нанопорошками феррита кобальта и магнетита *in vitro*. В обоих случаях величина механического напряжения деэпителизированных сегментов превышала амплитуду сокращения интактных сегментов. При добавлении феррита кобальта $100,23 \pm 5,01\%$ (n=6) и $35,9 \pm 6,31\%$ (n=6) соответственно, при добавлении магнетита $118,19 \pm 6,14\%$ (n=8) и $99,71 \pm 5,83\%$ (n=6). В обоих случаях величина EC_{50} деэпителизированных сегментов была ниже, чем у интактных сегментов.

Полученные данные позволяют предположить, что холинэргическая стимуляция бронхов может несколько усиливать выработку эпителием

релаксирующего фактора, либо угнетать выработку констрикторных факторов. В результате ингаляций нанопорошками эпителий практически полностью утрачивает эту способность, и сохраняет ее только при действии высоких концентраций карбахолина. Возможно, полученные результаты свидетельствуют о дисфункциях эпителия ВП и возможном нарушении рецепторного поля.

3.2. Участие эпителия в гистаминэргической регуляции сократительных реакций гладких мышц воздухоносных путей

Все сегменты отвечали на воздействие гистамина в концентрациях 0,01–10мкМ дозозависимым сокращением. Максимальная амплитуда сокращения интактных сегментов на гистамин в концентрации 10мкМ составила $32,98 \pm 4,84\%$ (n=15), деэпителизированных $41,77 \pm 5,47\%$ (n=9), данные различия являлись достоверно значимыми ($p < 0,05$).

Изменение амплитуды сокращения при сохранном и удаленном эпителии свидетельствует о наличии факторов модулирующих расслабление ГМК. В роли такого фактора может выступать оксид азота (NO), выработанный эпителием интактных сегментов. Этим объясняется и повышение амплитуды сокращения при удалении эпителия.

Сегменты, полученные от животных ингалированных нанопорошком феррита кобальта и магнетита, отвечали дозозависимым сокращением при добавлении гистамина в концентрациях 0,1–10мкМ. Максимальная амплитуда сокращения интактных сегментов составила $75,5 \pm 11,2\%$ (n=6), $EC_{50} = 2,64$ мкМ (при ингаляции ферритом кобальта) и $41,59 \pm 10,5\%$ (n=6) (при ингаляции магнетитом). На протяжении всего диапазона исследуемых концентраций гистамина, величина механического напряжения развиваемого деэпителизированными сегментами была несколько больше, максимальные величины составили $82,29 \pm 4,79\%$ $EC_{50} = 0,45$ мкМ (при ингаляции ферритом кобальта) и $48,41 \pm 6,44\%$ (n=6) (при ингаляции магнетитом). Различия величин сократительных ответов в обоих случаях не являлись статистически значимыми. Величина EC_{50} деэпителизированных сегментов была ниже по сравнению с интактными, при ингаляции ферритом кобальта эти различия были статистически значимыми ($p < 0,05$).

Минимальные различия в амплитуде сокращения интактных и деэпителизированных сегментов могут быть обусловлены повреждением эпителия воздухоносных путей при ингаляции животных аэрозолями, содержащими наночастицами.

Для оценки влияния эпителия ВП на механическое напряжение ГМ сравнивали амплитуду сокращения интактных и деэпителизированных сегментов, обработанных нанопорошками феррита кобальта и магнетита *in vitro*. В обоих случаях величина механического напряжения деэпителизированных сегментов превышала амплитуду сокращения интактных сегментов $195,95 \pm 12,37\%$ (n=9) и $54,54 \pm 12\%$ (n=5) при добавлении феррита кобальта, $61,19 \pm 9,95\%$ (n=7) и $26,96 \pm 4,79\%$ (n=6) при

добавлении манетита. Данные различия являлись статистически значимыми ($p < 0,05$).

Таким образом, при взаимодействии биологической ткани с нанопорошком *in vitro*, различия механического напряжения интактных и деэпителизированных сегментов, являются более выраженными по сравнению с малыми количественными изменениями, наблюдаемыми после ингаляционного введения наноматериала. Возможно, наночастицы поступившие *in vivo* вызывают нарушение функционирования или целостности эпителия, что обуславливает малые корректирующие эффекты на величину механического напряжения. При действии нанопорошков на ГМК *in vitro* наличие эпителия оказывает значительное влияние на амплитуду развиваемого сокращения, возможно, вследствие сохранения структуры и способности выполнять барьерную функцию и обеспечивать модуляцию сокращения за счет наработки факторов расслабления.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным многочисленных исследований установлено, что наночастицы, благодаря своим уникальным характеристикам, могут влиять на состояние как самих воздухоносных путей, изменяя их сократительные свойства, так и на механизмы вне- и внутриклеточной сигнализации например: ансамбля эпителий-гладкомышечная клетка [Drake P., 2007; Kang S.J., 2008; Ahamed M., 2013 и др.]. Данное предположение подтверждается результатами настоящего исследования.

Известно, что тонус стенки воздухоносных путей обусловлен механическим напряжением гладкомышечных клеток, модулируемый различными физиологически активными веществами, выделяемыми нервными окончаниями, эпителиоцитами и клетками микроокружения. Само сокращение гладких мышц, которые являются внутренним слоем стенки бронхов и трахеи, развивается вследствие открывания потенциалозависимых кальциевых и/или рецепторуправляемых кальциевых каналов. Это подтверждают полученные в представленных исследованиях изменения механического напряжения сегментов воздухоносных путей под влиянием деполяризующего гиперкалиевого раствора и используемых биологически активных веществ (гистамин, карбахолин, сальбутамол).

Известно, что сорбция биополимеров на поверхности наночастиц, в том числе, и мембранных полимеров, вызывает конформационные изменения в молекулах ферментов, рецепторов, транспортеров и др., что сопровождается изменением их физиологической активности - от полной утраты до её потенцирования взаимодействием с наночастицами [Geiser M., 2005; Stone V., 2007; Brandenberger C., 2009 и др.]. Такие изменения могут изменять сократительные реакции гладких мышц воздухоносных путей в ответ на биологические активные вещества, что и подтвердили проведенные исследования.

С другой стороны, сорбция наноразмерных частиц на плазматической мембране может приводить к уменьшению эффективной площади, то есть

мембранной поверхности, которая обеспечивает жизнедеятельность клетки (транспорт веществ, рецепторное взаимодействие с внеклеточными агонистами и др.). Это, в свою очередь, не может, не отразиться на поступлении в гладкомышечные клетки ионов кальция и регистрируемого уровня механического напряжения воздухоносных сегментов.

В настоящем исследовании убедительно показано, что введение наночасти *in vitro*, то есть непосредственно в рабочую камеру с сегментами воздухоносных путей, оказывает влияние на механизмы регуляции механического напряжения гладкомышечных клеток. Однако еще большее влияние наноразмерные частицы оказывают при попадании в организм экспериментальных животных ингаляционным путем. При таком способе введения наноматериал может оказывать не только прямое действие на гладкомышечные клетки, но и опосредованное. Наночастицы, попадающие в клетки микроокружения и эпителиоциты, могут приводить к увеличению или снижению выброса биологически активных соединений: цитокинов, эйкозаноидов, активных форм кислорода; что в конечном итоге приведет к изменению тонуса бронхов и трахеи.

Как показали эксперименты, введение наночастиц ингаляционно или *in vitro* приводит к потенцированию сократительных реакций на гистамин и карбахолин. При этом величина изменения механического напряжения зависит как от вида используемого нанопорошка, так и от способа его введения. Феррит кобальта вызывал наиболее значимое увеличение амплитуды сокращения на действие гистамина при обоих способах введения, сохранности или удалении эпителия. Ингаляционное введение диоксида олова приводило к еще более выраженному увеличению сократительной реакции. На действие карбахолина при всех сформированных условиях эксперимента более значимые изменения механического напряжения вызывал наноразмерный магнетит.

Так как плазматическая мембрана эпителиоцитов – первая структура, с которой сталкиваются ингаляционно введенные наночастицы, то очевидным представляется изменение функционирования клеток эпителия и модулирование механического напряжения прилежащих гладкомышечных клеток. Экспериментальные изучения находят много свидетельств того, что ингалированные наночастицы могут перемещаться по эпителию воздушного пространства и вызывать увеличение воспаления и высвобождение воспалительных маркеров, а так же частицы различных размеров могут быть подвергнуты эндоцитозу эпителиоцитами [Limbach L.K., 2005; Qiang Y., 2006; Brandenberger C., 2009 и др.].

Проведенные исследования подтвердили, что именно при ингаляционном способе попадания наночастиц в организм происходит существенное снижение релаксирующего модулирующего влияния клеток эпителия на сократительные ответы изолированных сегментов воздухоносных путей.

Таким образом, можно заключить, что, несмотря на все положительные перспективы применения наночастиц в области промышленности, косметологии и особенно медицины, следует учитывать их способность

вмешиваться в физиологические процессы регуляции сократительной активности гладких мышц воздухоносных путей и рекомендовать манипуляции, корректирующие функции эпителия.

ВЫВОДЫ

1. Ингаляционное введение наноразмерных частиц вызывает увеличение сократительных ответов гладких мышц воздухоносных путей на гистаминергические и холинергические воздействия.

2. Величина адренергического расслабления при ингаляционном введении наноразмерных частиц зависит от фактора, индуцирующего сокращение: возрастает на фоне предсокращения гистамином и уменьшается на фоне сокращения, вызванного гиперкалиевым раствором Кребса.

3. Изменение сократительных ответов гладких мышц сегментов воздухоносных путей на холин-, гистамин- и адренергические воздействия при действии наноразмерных частиц *in vitro* зависит от химической природы последних: при интактном эпителии феррит кобальта угнетает холинергические реакции. Тогда как магнетит угнетает гистаминергические реакции при интактном эпителии, но потенцирует адренергическое расслабление деэпителизированных гладкомышечных сегментов.

4. Сократительные ответы гладкомышечных сегментов на гистаминергические и холинергические воздействия угнетаются при сохранном эпителии воздухоносных путей. Указанный эффект эпителия сохраняется при обработке сегментов взвесью наноразмерных частиц *in vitro*, но подавляется при ингаляционном поступлении наноразмерных частиц.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Капилевич Л.В., Дьякова Е.Ю., Огородова Л.М., Зайцева Т.Н., Носарев А.В., Сазонов А.Э. Сократительные свойства гладких мышц бронхов при формировании гиперреактивности воздухоносных путей // **Российский физиологический журнал им. Сеченова И.М.** – 2005. – Т.91, №7. – С. 832-843.
2. Капилевич Л.В., Дьякова Е.Ю., Огородова Л.М., Зайцева Т.Н., Сазонов А.Э., Носарев А.В. Роль респираторного эпителия в формировании гиперреактивности гладких мышц бронхов // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.** – 2005. – Т. 140, №9. – С. 250-253.
3. Агеев Б.Г., Дьякова Е.Ю., Зайцева Т.Н., Капилевич Л.В., Носарев А.В., Петлина З.Р. Исследование оптического ослабления аэрозоля, содержащего нанодисперсную структуру // **Аэрозоли Сибири. XV Рабочая группа: Тезисы докладов.** – 2008. – С. 73-74.
4. Капилевич Л.В., Дьякова Е.Ю., Огородова Л.М., Носарев А.В., Зайцева Т.Н., Петлина З.Р., Агеев Б.Г., Магаева А.А., Итин В.И., Терехова О.Г. Влияние ингаляционного воздействия взвеси нанодисперсных частиц CoFe_2O_4 на сократительные реакции воздухоносных путей морских свинок // **Кубанский научный медицинский вестник.** – 2009. – Т. 106, № 1. – С. 48-51.
5. Капилевич Л.В., Дьякова Е.Ю., Зайцева Т.Н., Петлина З.Р., Огородова Л.М., Агеев Б.Г., Магаева А.А., Итин В.И., Терехова О.Г., Носарев А.В. Исследование влияния взвеси нанодисперсных частиц CoFe_2O_4 на сократительные реакции

- воздухоносных путей животных при ингаляционном введении и при воздействии на изолированные сегменты // **Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова.** – 2009. – №1. – С. 74-78.
6. Зайцева Т.Н., Петлина З.Р., Носарев А.В., Агеев Б.Г., Капилевич Л.В., Дьякова Е.Ю., Огородова Л.М. Оптические свойства аэрозоля раствора нанопорошка феррита кобальта // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.** – 2009. – Т.8, №1. – С. 101-103.
 7. Зайцева Т.Н., Носарев А.В., Дьякова Е.Ю., Петлина З.Р., Капилевич Л.В. Влияние взвеси наноразмерного феррита кобальта на сократительные реакции гладких мышц воздухоносных путей // Сб. «Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных органов в норме и при патологии»: Материалы научной конференции с международным участием посвященной 120-летию кафедры физиологии Сибирского государственного медицинского университета и Томского государственного университета. – 2009. – С. 75-77.
 8. Капилевич Л.В., Зайцева Т.Н., Носарев А.В., Дьякова Е.Ю. Исследование влияния дезинтеграторов цитоскелета на сократительные реакции гладких мышц воздухоносных путей // Сб. «Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных органов в норме и при патологии»: Материалы научной конференции с международным участием посвященной 120-летию кафедры физиологии Сибирского государственного медицинского университета и Томского государственного университета. – 2009. – С. 77-78.
 9. Дьякова Е.Ю., Носарев А.В., Зайцева Т.Н., Петлина З.Р., Моторыкина Я.И. Исследование влияния селективных дезинтеграторов цитоскелета на сократительные реакции бронхов // Сб. «Науки о человеке»: Материалы X международного конгресса молодых ученых и специалистов. – Томск, 2009. – С. 79-80.
 10. Зайцева Т.Н., Моторыкина Я.И., Носарев А.В., Дьякова Е.Ю. Изменение сократительной активности гладких мышц при ингаляционном введении нанодисперсных частиц // Сборник статей по материалам X конгресса молодых ученых и специалистов “Науки о человеке”. – 2009. – С. 81-83.
 11. Зайцева Т.Н., Носарев А.В., Агеев Б.Г., Капилевич Л.В., Дьякова Е.Ю., Магаева А.А., Терехова О.Г., Итин В.И. Оптические свойства аэрозолей растворов нанопорошков магнетита и диоксида олова // **Бюллетень сибирской медицины.** - 2010. - № 1. - С. 143-145.
 12. Капилевич Л.В., Дьякова Е.Ю., Носарев А.В., Зайцева Т.Н., Петлина З.Р., Огородова Л.М., Агеев Б.Г., Магаева А.А., Итин В.И., Терехова О.Г. Влияние нанодисперсных частиц феррита кобальта (CoFe_2O_4) на сократительные реакции воздухоносных путей морских свинок // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.** – 2010. – Т. 141, №1. – С. 77-79.
 13. Дьякова Е.Ю., Носарев А.В., Зайцева Т.Н. Влияние ингаляционного воздействия взвеси нанодисперсных частиц на сократительные реакции воздухоносных путей // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2010. – №2. – С.483.
 14. Зайцева Т.Н., Носарев А.В., Дьякова Е.Ю. Регуляция сократительной активности гладких мышц трахеи морских свинок при ингаляции наночастиц металлов // Сборник статей по материалам XI конгресса молодых ученых и специалистов “Науки о человеке”. – 2010. – С. 53-54.

15. Носарев А.В., Зайцева Т.Н. Влияние эпителия на величину механического напряжения гладких мышц воздухоносных путей при ингаляционном способе введения нанопорошков // Сборник статей по материалам XI конгресса молодых ученых и специалистов “Науки о человеке”. – 2010. – С. 63-64.
16. Зайцева Т.Н., Носарев А.В., Дьякова Е.Ю. Исследование влияния взвеси наноразмерных частиц феррита кобальта и магнетита на сократительные реакции гладких мышц воздухоносных путей // Сборник тезисов по материалам XVI межгородской конференции «Актуальные проблемы патофизиологии» – 2010. – С. 66-67.
17. Капилевич Л.В., Зайцева Т.Н., Носарев А.В., Агеев Б.Г., Дьякова Е.Ю., Огородова Л.М. и др., Сократительные реакции гладких мышц воздухоносных путей морских свинок в присутствии наноразмерных частиц диоксида олова // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.** – 2012. – Т.153, №1. – С. 110-112.
18. Капилевич Л.В., Зайцева Т.Н., Носарев А.В., Дьякова Е.Ю., Петлина З.Р., Огородова Л.М. и др., Влияние наноразмерных частиц феррита кобальта на сократительные реакции гладкомышечных сегментов воздухоносных путей // **Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.** – 2012. – Т.98, №2. – С. 228-235.
19. Зайцева Т.Н., Носарев А.В. Эффект влияния ингаляционно введенных наночастиц на сократительную активность гладких мышц // сборник статей Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы науки на современном этапе развития» – 2015. – С. 13-15.
20. Зайцева Т.Н., Носарев А.В. Изменение сократительных ответов воздухоносных путей морских свинок при ингаляции наночастицами // **Международный научно-исследовательский журнал.** – 2015. – №4(35), Часть 3. – С.32-33.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

БАВ – биологически-активное вещество

ВП – воздухоносные пути

ГМ – гладкие мышцы

ГМК – гладкомышечная клетка

NO – оксид азота

МН – механическое напряжение

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаю благодарность Агееву Борису Григорьевичу, с.н.с. ЛААС ИОА СО РАН за предоставленную возможность и помощь в исследовании пропускания лазерного излучения воздушно-аэрозольными смесями по стандартной спектрофотометрической схеме на стенде лаборатории и интерпретации полученных результатов.

Выражаю благодарность сотрудникам отдела структурной макрокинетики ТНЦ СО РАН за предоставленные наночастицы доксида олова, феррита кобальта, магнетита.

Подписано в печать 26.02.2016
Тираж 100 экз., Заказ 002602.
Тираж отпечатан в типографии ООО «НИП»
634029, г. Томск, ул. Советская, 47
Тел. (3822) 53-14-70, 52-83-10