

УДК 591.1:597.6

## АКТИВНОСТЬ МУКОЦИЛИАРНОГО ТРАНСПОРТА ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛИЦЕРОЛА

Нехороший А.А., Буриков А.А., Кутенко М.А.

*ФГАОУ ВПО «Южный федеральный университет», Педагогический институт, кафедра общей биологии, Ростов-на-Дону, e-mail: [momigel@yandex.ru](mailto:momigel@yandex.ru)*

Предварительно было установлено, что глицерол с концентрацией менее 5% не изменяет активность мукоцилиарной транспортной системы; глицерол с концентрацией более 15% выражено тормозит мукоцилиарный транспорт, а в отдельных случаях приводит к хаотичной цилиарной активности, что не давало достоверно значимых результатов, поэтому такие данные не учитывались в исследовательской работе. В работе исследовано влияние 5, 10 и 15%-ных растворов спирта глицерола, а также электромагнитной стимуляции на активность мукоцилиарного транспорта (МЦТ) пищевода лягушки озёрной. Установлено, что глицерол с увеличением концентрации (от 5 до 15%) снижает скорость МЦТ, но полностью не тормозит, а ЭМС (с увеличением частоты) восстанавливает мерцательную активность. Глицерол повышает вязко-эластические свойства слизи, что ведёт к снижению цилиарной активности, а ЭМС разжижает слизь за счёт перераспределения связей между белками, что приводит к уменьшению вязкости слизи. Таким образом, электромагнитная стимуляция компенсирует негативное влияние спирта глицерола на мукоцилиарный транспорт.

Ключевые слова: мерцательный эпителий, мукоцилиарный транспорт, электромагнитная стимуляция, глицерол, ресничка.

## ACTIVITY OF THE MUCOCILIARY TRANSPORT UNDER THE INFLUENCE OF THE GLYCEROL

Nekhoroshiy A.A., Burikov A.A., Kutenko M.A.

*Pedagogical Institute – Federal State-Owned Educational Establishment of Higher Vocational Education «Southern federal university», Rostov-on-Don, 344082, e-mail: [momigel@yandex.ru](mailto:momigel@yandex.ru)*

It had been previously set, that the glycerol with the concentration of less than 5% does not change the activity of mucociliary transport system. The glycerol with a concentration of more than 15% expressed inhibits the mucociliary transport, and in some cases leads to chaotic ciliary activity, which did not give fairly significant results, so these data are not included in this research. In the work, influence of 5, 10 and 15% solutions of glycerol, and also electromagnetic stimulations on activity of the rana ridibunda ciliary epithelium of the gullet is investigated. It is established, that glycerol with concentration increase speed (MCT) brakes, and EMS restores mucociliary activity. It is established, that the glycerol, with increase in concentration (from 5 to 15%), reduces the speed of the MCT, but not completely slows down, and EMS (with increasing frequency) restores ciliary activity. The glycerol increases the visco-elastic properties of mucus, which leads to a reduction of the ciliary activity, and EMS liquefies mucus, due to redistribution of relations between proteins, which leads to a decrease in viscosity of the mucus. Thus, the electromagnetic stimulation compensate of the negative influence of the alcohol glycerol on the mucociliary transport.

Key words: ciliary epithelium, mucociliary transport, electromagnetic stimulation, glycerol, cilia.

Реснички мерцательного эпителия и слизь, продуцируемая его бокаловидными клетками, составляют основу единой мукоцилиарной транспортной системы, от функционирования которой зависят многие процессы в живых организмах. Мерцательная активность необходима для обеспечения нормальной циркуляции жидкости в теле некоторых аннелид [8]. Реснички эпителия ротоглоточной полости и пищевода у лягушек обеспечивают транспорт пищи в желудок, а в воздухоносных путях млекопитающих и человека осуществляют клиренс [9]. Исследование влияния различных химических и физических факторов на мукоцилиарный транспорт является актуальным направлением в

современной физиологии. Также существует перспектива использования мерцательной активности в микробиороботостроении, в качестве микросенсоров и микродвигателей.

Среди различных химических веществ достаточно важным является глицерол, который используется в фармацевтике, пищевой промышленности, косметологии. Данный спирт является естественным для живых организмов, например, он входит в состав фосфолипидов клеточных мембран, но избыточное его поступление в организм может привести к нежелательным функциональным отклонениям, т.к. глицерол связывает молекулы воды и может привести к обезвоживанию вне- и внутриклеточной среды. Глицерол способен тормозить развитие клеток крови, неблагоприятно влиять на активность сперматозоидов животных и человека. Очень важным является поиск возможных способов коррекции биохимической активности данного многоатомного спирта.

Целью данной работы явилось изучение влияния водных растворов глицерола на мукоцилиарный транспорт пищевода лягушки озёрной (*Rana ridibunda*, Pallas, 1771) в условиях электромагнитной стимуляции (ЭМС). Т.к. ранее было показано, что электромагнитная стимуляция активирует мукоцилиарный транспорт пищевода лягушки озёрной [9].

#### **Методы и материалы исследования**

В эксперименте использовались лягушки озёрные (обоёго пола в возрасте 2–3 лет и массой 100–200 граммов). Подопытные животные были разделены на 3 группы: 1) интактные животные, чей мерцательный эпителий пищевода не подвергался химической и электромагнитной стимуляции (контроль); 2) животные, у которых мерцательный эпителий обрабатывали глицеролом, с концентрациями в 5, 10 и 15%; 3) экспериментальные животные, чей эпителий обрабатывали глицеролом, с концентрациями в 5, 10 и 15%, а также ЭМС (1, 5, 10 и 15 Гц).

Испытуемых животных декапитировали, а затем обездвигивали разрушением центральной нервной системы по стандартной методике [5]. Вскрывали брюшную полость. Вырезали фрагмент ротоглоточной полости, пищевод и часть желудка. Таким образом, получали препарат ротоглотки и пищевода с открытым мерцательным полем. Далее осуществляли фиксацию препарата на предметном стекле.

Химическую стимуляцию осуществляли глицеролом (с концентрациями 5, 10 и 15%). Дозатором наносили по 0,2 мл спирта на поверхность мерцательного поля в участке перехода фрагмента глотки в пищевод, перпендикулярно току слизи, от одного края пищевода к другому. Время экспозиции составляло 60 секунд. Затем подвергали мерцательный эпителий электромагнитному воздействию с помощью стимулятора Нейро-МС (Россия). Параметры импульсов стимуляции: частота в 1, 5, 10, 15 Гц; амплитуда 20%;

длительность серии импульсов 5 секунд; продолжительность паузы между соседними сериями стимулов 5 секунд; длительность одного сеанса стимуляции 20 секунд. Через 60 секунд после аппликации соответствующими растворами глицерола и одновременного сеанса электромагнитной стимуляции оценивали активность мукоцилиарного транспорта мерцательного эпителия по скорости движения графитовой пыли (весом 1 мг) по поверхности мерцательного поля. Пройденное расстояние определяли с помощью окуляр-микрометра. Полученные величины скорости мукоцилиарного транспорта пищевода лягушки выражали в миллиметрах пути, пройденного пылью в одну в секунду. Данное исследование проводилось методом световой микроскопии с помощью микроскопа МСП-1 (Россия) (окуляр  $\times 10$ , объектив  $\times 4$ ), с записью видеоизображения с помощью фото- и видеокамеры [3].

Достоверность различий между опытными и контрольными группами оценивали по  $t$ -критерию Стьюдента после проверки распределения на нормальность [6].

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Следует отметить, что в ходе предварительных экспериментов было установлено, что глицерол с концентрацией менее 5% не вызывает изменений активности мукоцилиарного транспорта, а глицерол с концентрацией раствора более 15% вызывает торможение функционирования мукоцилиарного транспорта, а в отдельных случаях хаотичности движения, что не давало достоверно значимых результатов, следовательно, эти данные не приводятся в представленной работе.

Из представленных данных (табл. 1) видно, что глицерол с концентрацией 5% понижает скорость мукоцилиарного транспорта на 61% ( $p_1 < 0,001$ ) относительно контрольного значения.

Под влиянием 5%-ного раствора глицерола и электромагнитной стимуляции (с частотой в 1 Гц) скорость мукоцилиарного транспорта на 43% ( $p_1 < 0,01$ ) ниже контрольного показателя, но на 49% ( $p_2 > 0,05$ ) недостоверно выше уровня группы с действием 5%-ного глицерола без электромагнитной стимуляции.

Под действием 5%-ного раствора глицерола и электромагнитной стимуляции с частотой 5 Гц скорость мукоцилиарного транспорта на 42% ( $p_1 < 0,01$ ) больше уровня контроля и на 268% ( $p_2 < 0,001$ ) выше уровня 5%-ного глицерола без электромагнитной стимуляции.

**Таблица 1 – Влияние 5%-ного глицерола (гл) и электромагнитной стимуляции (ЭМС), с частотами в 1, 5, 10, 15 Гц, на скорость мукоцилиарного транспорта пищевода лягушки озёрной (в мм/сек) ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )**

Условия эксперимента	Скорость, мм/сек
Контроль (без стимуляции)	0,075±0,011
5%-ный глицерол	0,029±0,005*
5%-ный глицерол + ЭМС 1 Гц	0,043±0,007*
5%-ный глицерол + ЭМС 5 Гц	0,11±0,006***
5%-ный глицерол + ЭМС 10 Гц	0,15±0,006***
5%-ный глицерол + ЭМС 15 Гц	0,18±0,007***

\* – достоверность различий по сравнению с контролем ( $p_1 < 0,05 - 0,001$ );

\*\* – достоверность различий по сравнению с 5%-ным глицеролом ( $p_2 < 0,05 - 0,001$ ).

Глицерол с концентрацией 5% и электромагнитная стимуляция в 10 Гц увеличивают скорость транспорта на 95% ( $p_1 < 0,001$ ) по сравнению с контролем и на 403% ( $p_2 < 0,001$ ) – с показателем 5%-ного глицерола без электромагнитной стимуляции. Электромагнитная стимуляция с частотой 15 Гц и 5%-ный раствор глицерола приводят к тому, что скорость мукоцилиарной транспортной системы увеличивается на 142% ( $p_1 < 0,001$ ) по сравнению с контрольным значением и на 525% ( $p_2 < 0,001$ ) по сравнению с 5%-ным глицеролом без последующей электромагнитной стимуляции.

Из таблицы 2 видно, что глицерол с концентрацией 10% понижает скорость мукоцилиарного транспорта на 79% ( $p_1 < 0,001$ ) относительно контрольного показателя.

Под влиянием 10%-ного раствора глицерола и последующей электромагнитной стимуляции (с частотой в 1 Гц) скорость мукоцилиарного транспорта на 69% ( $p_1 < 0,001$ ) ниже контроля, но на 48,1% ( $p_2 < 0,01$ ) выше уровня группы с действием 10%-ного глицерола без электромагнитной стимуляции. Влияние 10%-ного раствора глицерола и электромагнитной стимуляции с частотой 5 Гц выражается в том, что скорость мукоцилиарного транспорта снижается на 33,4% ( $p_1 < 0,05$ ) относительно уровня контрольного значения, но по сравнению с показателем действия 10%-ного глицерола без электромагнитной стимуляции увеличивается на 214% ( $p_2 < 0,001$ ).

**Таблица 2 – Влияние 10%-ного глицерола (гл) и электромагнитной стимуляции (ЭМС), с частотами в 1, 5, 10, 15 Гц, на скорость мукоцилиарного транспорта пищевода лягушки озёрной (в мм/сек) ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )**

Условия эксперимента	Скорость, мм/сек
Контроль (без стимуляции)	0,075±0,011
10%-ный глицерол	0,016±0,0004*
10%-ный глицерол + ЭМС 1 Гц	0,023±0,003***
10%-ный глицерол + ЭМС 5 Гц	0,050±0,003***
10%-ный глицерол + ЭМС 10 Гц	0,12±0,002***

10%-ный глицерол + ЭМС 15 Гц	0,15±0,003***
------------------------------	---------------

\* – достоверность различий по сравнению с контролем ( $p_1 < 0,05 - 0,001$ );

\*\* – достоверность различий по сравнению с 10%-ным глицеролом ( $p_2 < 0,05 - 0,001$ ).

Действие глицерола с концентрацией 10% и электромагнитной стимуляции с частотой 10 Гц, увеличивает скорость транспорта на 54,4% ( $p_1 < 0,01$ ) по сравнению с уровнем контроля и на 628% ( $p_2 < 0,001$ ) показателя 10%-ного глицерола без электромагнитной стимуляции. Электромагнитная стимуляция с частотой 15 Гц, а также 10%-ный раствор глицерола приводят к тому, что значение скорости мукоцилиарной транспортной системы на 101,3% ( $p_1 < 0,001$ ) выше контрольного значения и на 849% ( $p_2 < 0,001$ ) выше относительно показателя 10%-ного глицерола без последующей электромагнитной стимуляции. Глицерол с концентрацией 15% снижает скорость мукоцилиарного транспорта на 82% ( $p_1 < 0,001$ ) относительно контрольного значения (табл. 3). Под влиянием глицерола с концентрацией 15% и последующей электромагнитной стимуляции (с частотой в 1 Гц) скорость мукоцилиарного транспорта на 79,1% ( $p_1 < 0,001$ ) ниже контрольного показателя, но на 16% ( $p_2 < 0,05$ ) выше по сравнению с уровнем группы с действием 15% глицерола без электромагнитной стимуляции.

**Таблица 3 – Влияние 15%-ного глицерола (гл) и электромагнитной стимуляции (ЭМС), с частотами в 1, 5, 10, 15 Гц, на скорость мукоцилиарного транспорта пищевода лягушки озёрной (в мм/сек) ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )**

Условия эксперимента	Скорость, мм/сек
Контроль (без стимуляции)	0,075±0,011
15%-ный глицерол	0,014±0,001*
15%-ный глицерол + ЭМС 1 Гц	0,016±0,0004***
15%-ный глицерол + ЭМС 5 Гц	0,050±0,003***
15%-ный глицерол + ЭМС 10 Гц	0,10±0,002***
15%-ный глицерол + ЭМС 15 Гц	0,13±0,003***

\* – достоверность различий по сравнению с контролем ( $p_1 < 0,05 - 0,001$ );

\*\* – достоверность различий по сравнению с 10%-ным глицеролом ( $p_2 < 0,05 - 0,001$ ).

Под действием 15%-ного раствора глицерола и электромагнитной стимуляции с частотой 5 Гц скорость мукоцилиарного транспорта на 33% ( $p_1 < 0,05$ ) ниже показателя контроля и на 270% ( $p_2 < 0,001$ ) выше уровня 15%-ного глицерола без электромагнитной стимуляции.

Действие глицерола с концентрацией 15% и электромагнитной стимуляции с частотой 10 Гц увеличивает скорость транспорта на 36% ( $p_1 < 0,05$ ) по сравнению с контролем

и на 650% ( $p_2 < 0,001$ ) относительно показателя 15%-ного глицерола без электромагнитной стимуляции.

Электромагнитная стимуляция с частотой 15 Гц и 15%-ный раствор глицерола приводят к тому, что скорость мукоцилиарной транспортной системы на 74% ( $p_1 < 0,001$ ) выше величины контроля и на 863% ( $p_2 < 0,001$ ) – 15%-ного глицерола без последующей электромагнитной стимуляции.

Таким образом, глицерол выраженно снижает скорость мукоцилиарного транспорта (особенно с увеличением концентрации от 5 до 15%), но электромагнитная стимуляция отчётливо восстанавливает цилиарную транспортную активность.

Проводя анализ полученных в ходе эксперимента данных, следует указать, что глицерол (1,2,3-пропантриол) – это многоатомный предельный спирт, который способен образовывать водородные связи с молекулами воды, следовательно, проявляет гигроскопические свойства [2].

Глицерол (наряду с водой) может транспортироваться через мембрану с помощью специальных транспортных белков-аквапоринов [4]. Влияние глицерола на клетки мерцательного эпителия выражается в том, что глицерол тормозит активность мукоцилиарного транспорта.

Глицерол отнимает молекулы воды из состава слизи (которая на 89–95% состоит из воды), и таким образом объём жидкой фазы слизи уменьшается, а вязкой – увеличивается, что ведёт к повышению вязко-эластических и адгезионных свойств слизи. Увеличение вязко-эластических свойств слизи приводит к слипанию ресничек, а затем и к снижению скорости мукоцилиарного транспорта.

Кроме того, глицерол способен взаимодействовать со свободными жирными кислотами, которые в небольших количествах присутствуют в мембранах, что может привести к изменению структуры мембраны и её проницаемости. Проникая в клетку, глицерол может активно взаимодействовать с белками-тубулинами и/или динеинами в составе ресничек, изменяя их активность.

Электромагнитная стимуляция вызывает восстановление скорости мукоцилиарного транспорта. Возможно, что электромагнитная стимуляция способна изменять проницаемость мембран клеток для глицерола, разжижать слизь, путём перераспределения связей в составе молекул белковых полимеров слизи, уменьшая её вязкость и эластичность. Следует допустить то, что электромагнитное воздействие стимулирует выброс слизи бокаловидными клетками, что увеличивает скорость мукоцилиарного транспорта.

## **Выводы**

1. Глицерол с увеличением концентрации (5, 10 и 15%) уменьшает скорость мукоцилиарного транспорта, но полной остановки не происходит.
2. Электромагнитная стимуляция ведёт к заметному увеличению скорости после заметного цилиодепрессивного действия 5, 10 и 15%-ных растворов глицерола.

### Список литературы

1. Александров В.Я. Поведение клеток и внутриклеточных структур (Цитоэкология). – М. : Знание, 1975. – 64 с.
2. Биохимия мембран : учеб. пособие для биол. и мед. спец. вузов / под ред. А.А. Болдырева. Кн. 3. А.М. Белоус, Е.М. Гордиенко, Л.Ф. Розанов. Замораживание и криопротекция. – М. : Высшая школа, 1987. – 80 с.
3. Буриков А.А., Кутенко М.А., Нехороший А.А. Возможность применения мерцательного эпителия в медицинском микробиороботостроении // Известия Южного федерального университета. Технические науки. – 2009. – № 10. – С. 203-208.
4. Давыдова Е.В., Коваленко И.Ф., Гордиенко О.И. Влияние температуры и блокатора белковых каналов на коэффициенты проницаемости мембран дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для воды и криопротекторов // Криобиология. – 2009. – Вып. 10. – С. 82-90.
5. Коган А.Б., Щитов С.И. Практикум по сравнительной физиологии. – М. : Советская наука, 1954. – 548 с.
6. Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – Киев : Морион, 2000. – 319 с.
7. Нехороший А.А., Буриков А.А. Электромагнитная стимуляция мукоцилиарной транспортной системы пищевода лягушки озёрной // Мат. 2-й межд. науч.-практ. конф. «Актуальные достижения европейской науки». – София (Болгария) : Руснаучкнига. – 2011. – Т. 33. – С. 22-23.
8. Ручин А.Б., Логинова Н.Г. Зоология с основами экологии. – Саранск : Изд-во Мордовского университета, 2008. – 108 с.
9. Шмагина А.П. Мерцательное движение. – М. : Медгиз, 1948. – 239 с.

### Рецензенты

Трохимчук Людмила Фёдоровна, д.б.н., профессор кафедры анатомии и физиологии детей и подростков ПИ ЮФУ, г. Ростов-на-Дону.

Бондаренко Тамара Ивановна, д.б.н., профессор кафедры биохимии и микробиологии ЮФУ, г. Ростов-на-Дону.