

005060631

1
на правах рукописи

ТЕПЛОВ АЛЕКСАНДР ЮРЬЕВИЧ

МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ
ПОПЕРЕЧНОПОЛОСАТЫХ МЫШЦ В УСЛОВИЯХ БЕЛКОВОЙ
СЕНСИБИЛИЗАЦИИ

14.03.03 – патологическая физиология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени

доктора биологических наук

30 МАЙ 2013

Москва – 2013

33

Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ и ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов»

Научный консультант:

доктор биологических наук, профессор Торшин Владимир Иванович

Официальные оппоненты:

Доктор биологических наук, профессор Кошелев Владимир Борисович
Зав. кафедрой физиологии и общей патологии ФФМ МГУ
имени М. В. Ломоносова.

Доктор биологических наук Федорова Татьяна Николаевна
Зав. лабораторией клинической и экспериментальной нейрехимии Научного центра неврологии РАМН

Доктор биологических наук, профессор Гильмутдинов Рустам Якубович
Зав. кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана».

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАМН

Защита диссертации состоится "5" ^{сентября} 2013 г. в 13 часов на заседании диссертационного Совета Д 212.203.06 ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198 г Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198 г. Москва, ул.Миклухо-Маклая, 8.

Автореферат разослан "...." 2013 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета,
Доктор медицинских наук, профессор

Г.А.Дроздова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Важной проблемой современной патофизиологии является вопрос пластичности поперечно-полосатых мышц. В значительной мере это относится к спортивной биологии и медицине, к влиянию белковой сенсбилизации на функцию мышечной системы при обязательной вакцинации спортсменов перед соревнованиями. Очевидно, что аллергическая перестройка способна изменять функциональные свойства двигательных мышц [Picado C. et all., 1990; McConnell A.K., 2004; Carlsen K.H. et all., 2008], ткань которых не может оставаться нечувствительной к гуморальным факторам, появляющимся в организме при формировании аллергической реакции [Крыжановский Г.Н. 1995, 2004]. Актуальность этой проблемы так же определяется необходимостью компенсации функции ряда органов и систем в условиях сопутствующей патологии, имеющей аллергический компонент. При развитии хронических форм обструктивных заболеваний легких и, в первую очередь, бронхиальной астмы остаются неопределенными возможные механизмы изменения работы дыхательных мышц и, в частности, диафрагмы [Supinski G.S. et all. 1982, 2007].

Впервые состояние скелетных мышц в условиях аллергии начали изучать представители Казанской школы патофизиологов: А.Д. Адо (1944, 1946), А.М. Хомяков (1950), И.М. Рахматуллин (1965) и др. Исследования функциональных свойств изолированных скелетных мышц в ходе развития аллергической реакции показали, что одним из основных механизмов в их изменении является холиноопосредованное возбуждение мембраны мышечного волокна. Работами А.М. Девятаева (1996), В.В. Валиуллина (1996), а также нашими предварительными исследованиями показано, что у различных типов («быстрых» и «медленных» фазных) мышц в характере изменений их морфо-функционального статуса при аллергии имеются существенные, порой принципиальные различия.

Известно, что молекула аденозин-5'-трифосфата (АТФ), кроме выполнения в организме макроэргической функции, способна выступать в роли синаптического модулятора. Выделяясь из двигательных нервных окончаний совместно с основным медиатором ацетилхолином (Ах), АТФ влияет на его секрецию, чем определяет параметры мышечного сокращения [Ziganshin et al., 2005]. Механизмы заключаются во влиянии АТФ на квантовую [Giniatullin R.A. et al., 1998] и неквантовую [Galkin A.V. et al., 2001] секрецию Ах, на постсинаптические АТФ-чувствительные катионные каналы [Pelaia G. et al., 2002] и работу системы внутриклеточных посредников. Учитывая, что одновременно с выше перечисленным АТФ участвует в становлении и развитии аллергической реакции [Ferrari D. et al., 2006], а так же определяет состояние сократительных структур при сенсibilизации [Tsai T.L. et al., 2009], мы предположили ее участие в механизмах изменения функции поперечно-полосатых мышц в условиях экспериментальной аллергии. Кроме того, принимая во внимание способность АТФ по-разному влиять на работоспособность у различных типов мышц и мышечных волокон мы в праве ожидать и различную степень участия пуринергических механизмов в изменения функции (обеспечения пластичности) у различных типов поперечно-полосатых мышц в ходе развития аллергической реакции.

Решение всех этих вопросов и составило основную цель настоящей работы.

Цель исследования.

Изучить механизмы пластичности поперечнополосатых мышц в условиях белковой сенсibilизации, выявить участие холинергических механизмов в изменении сократительной функции и состояния постсинаптической мембраны у фазных мышц с различным составом мышечных волокон.

Задачи исследования.

1. Изучить патофизиологические механизмы влияние белковой сенсибилизации на сократительные свойства поперечнополосатых мышц мышцей с различным составом мышечных волокон.

2. Исследовать патофизиологические механизмы влияние белковой сенсибилизации на неквантовую секрецию ацетилхолина у различных поперечнополосатых мышц мышцей.

3. Раскрыть механизмы влияния экзогенной АТФ на сократительные свойства у различных поперечнополосатых мышц мышцей.

4. Выявить механизмы влияния экзогенной АТФ на неквантовую секрецию ацетилхолина у различных поперечнополосатых мышц мышцей.

5. Определить патофизиологические механизмы влияния экзогенной АТФ на сократительные свойства у различных поперечно-полосатых мышц мышцей в условиях белковой сенсибилизации.

6. Показать патофизиологические механизмы влияния экзогенной АТФ на неквантовую секрецию ацетилхолина у различных поперечнополосатых мышц мышцей в условиях белковой сенсибилизации.

Научная новизна. Впервые показано участие АТФ в механизмах пластичности «смешанных» и «медленных» фазных мышц мышцей в условиях белковой сенсибилизации.

Впервые комплексно изучены и проанализированы данные об изменениях сократительных свойств, и, в частности, силовых и скоростных характеристик сокращения *in vitro*, вызванного агонистом карбахолином у «быстрых», «смешанных» и «медленных» поперечнополосатых мышц мышцей в условиях белковой сенсибилизации.

Впервые показано, что у мышцей в основе разнонаправленности изменений функциональных свойств «быстрой» мышцы с одной стороны, «смешанной» и «медленной» с другой, вызванных белковой

сенсibilизацией лежит изменение свойств холинозбудимой мембраны миоцитов.

Впервые показано влияние АТФ на силовые характеристики сокращения *in vitro*, вызванного карбахолином и неквантовую секрецию ацетилхолина у «быстрых», «смешанных» и «медленных» поперечнополосатых мышц мышей в условиях белковой сенсibilизации.

Научно-практическая значимость работы. Полученные результаты экспериментальных исследований имеют существенное значение для понимания механизмов пластичности скелетных мышц при аллергии. Представленные в работе результаты представляют интерес для специалистов по спортивной медицине, а также могут быть использованы в последующем изучении механизмов возбуждения и сокращения скелетных мышц с различным волоконным составом в патофизиологических исследованиях.

Положения, выносимые на защиту:

1. Белковая сенсibilизация приводит к изменению функциональных свойств поперечнополосатых мышц, изменяя их сократительные характеристики и состояние постсинаптической мембраны.
2. Изменения функциональных свойств поперечнополосатых мышц *in vitro* при белковой сенсibilизации является следствием изменения холинергических механизмов возбуждения постсинаптической мембраны.
3. Характер изменений функциональных свойств поперечнополосатых мышц при белковой сенсibilизации зависит от их волоконного состава.

Апробация работы.

Материалы исследований обсуждались на: III съезде физиологов Сибири и Дальнего Востока (Новосибирск, 1997 г.); Научной конференции,

посвященной 35-летию ЦНИЛ КГМУ (Казань, 1997 г.); Всероссийской школе молодых ученых «Актуальные проблемы нейробиологии» (Казань, 1998, 1999 г.г.); XVIII съезде физиологического общества имени И.П. Павлова. (Казань, 2001 г.); Международной конференции «Рецепция и внутриклеточная сигнализация» (Пушино, 2003 г.); 23 European Muscle Conference (Монпелье, 2003 г.); 18 научно практической конференции гистологов «Фундаментальные и прикладные проблемы гистологии. Гистогенез и регенерация тканей» (Санкт Петербург, 2004 г.); Второй международной конференции «Патофизиология и современная медицина» (Москва, 2004 г.); International Symposium «Biological motility» (Пушино, 2004, 2006, 2008, 2010, 2012 г.г.); V Сибирском физиологическом съезде (Томск, 2005 г.); Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Типовые патологические процессы» (Уфа, 2005 г.); III Международной конференции «Болезни цивилизации в аспекте учения В.И. Вернадского» (Москва, 2005 г.); V Международной конференции по функциональной нейроморфологии «Колосовские чтения – 2006» (Санкт Петербург, 2006 г.); Российской конференции по нейроиммунопатологии (Москва, 2006 г.); XX съезде физиологического общества имени И.П. Павлова (Москва, 2007 г.); VIII Конгрессе «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии» (Москва, 2007 г.), II Съезде физиологов СНГ (Кишинев, 2008 г.), X Конгрессе «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии» (Казань, 2009 г.), VI Всероссийской школе-конференции «Системные и клеточные механизмы в физиологии двигательной системы и мышечной деятельности» (Москва, 2011 г.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 45 работа, в том числе 17 статей в журналах, входящих в перечень, утвержденный ВАК РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 200 страницах, состоит из введения, обзора литературы, главы Материалы и методы исследования, 4 тематических глав, содержащих результаты собственных исследований и их обсуждение. В работе имеется общее обсуждение, заключение и выводы, список цитируемой литературы, содержащий 402 работы, из них 246 иностранных авторов. Диссертация иллюстрирована 36 рисунками и 30 таблицами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились на поперечнополосатых мышцах 331 мышцы. Использовались животные обоего пола, массой тела 17 – 22 г. В основных сериях экспериментов на трех различных мышцах (ДРП, диафрагма, КМ) *in vitro* изучались механизмы влияние белковой сенсибилизации на характеристики сокращения на холиномиметик карбахолин и величину некантовой секреции ацетилхолина (Таблицы 1 и 2). В качестве контроля использовались интактные животные того же возраста и веса.

*Исследование сократительной функции поперечнополосатой мышцы экспериментального животного проводилось методом регистрации сократительных свойств *in vitro*, в изометрическом режиме с помощью фотоэлектрического преобразователя [Ахметзянов Р.Х., Филиппов Е.Б., 1986]. Препарат мышцы помещался в термостатируемую ванночку и одним концом крепился к датчику фотоэлектрического преобразователя. Другой конец жестко фиксировался в ванночке. Мышца при постоянной перфузии физиологическим раствором типа Кребса растягивалась в течении 20-30 минут с силой, достаточной для достижения изометрического режима сокращения. Агонист – Кх – добавлялся в ванночку при остановленной перфузии, в субмаксимальных концентрациях, которые составляли: для ДРП - 7×10^{-4} М, полоски диафрагмы - 2×10^{-4} М, КМ - 5×10^{-4} М. Кривая сокращения регистрировалась самописцем Н-327-1 (Россия). Для оценки сократительных*

свойств полоски скелетной мышцы было использовано 8 параметров, позволяющих достаточно объективно отражать функциональное состояние исследуемой полоски мышцы [Cloze R., 1972; Takamori M. et al., 1981; Гурфинкель В.С. и др., 1985; Богданов Э.И. и др., 1986]. Наиболее информативными из них оказались следующие: 1. Время развития максимального напряжения (СТ); 2. Сила одиночного сокращения (Рос); 3. Скорость сокращения (Voc), определяемая отношением Poc/CT . Сила сокращения определялась в миллиграммах; временные характеристики - в секундах; скорость сокращения – отношением мг/сек. Силу сокращения мышцы соотносили с длиной либо массой мышечного препарата. При необходимости в представленной работе анализ изменения функционального состояния мышцы осуществлялся по любому из показателей.

Неквантовую секрецию Ах измеряли с помощью стеклянных микроэлектродов (сопротивлением 8-12 МΩ, заполненных 2,5 М КСl) [Giniatullin R.A. et al., 1993]. Для определения ее величины сначала армином («Татхимфармпрепараты», Россия) устранялось действие ацетилхолинэстеразы, после чего на мышцу в течении 8-12 минут апплицировался блокатор Н-холинорецепторов d-тубокурарин ($10^{-5}M$). Разница значений мембранного потенциала до и после аппликации ТБК соответствует величине неквантовой секреции Ах (Н-эффект).

Содержание животных и работа с ними проводилась в соответствии с приказом Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г. На проведение экспериментов получено разрешение этического комитета ГОУ ВПО КГМУ (протокол № 5 от 7 декабря 2009 г.)

Влияние АТФ («Boehringer Mannheim GmbH», Germany) на поперечнополосатые мышцы изучалось сравнением показателей сокращения до и после перфузии ее раствором, содержащим изучаемое вещество в заданной молярной концентрации; время действия его на мышцу определялось длительностью перфузии (Burnstock G., 2006).

Таблица 1. Объем материалов исследования в различных экспериментальных моделях при изучении сократительных свойств поперечно-полосатых мышц мыши *in vitro*

Мышца	Экспериментальная модель	Количество	
		Экс-тов	Животных
I. Диафрагмальная мышца	1. Препарат мышцы интактного животного	20	20
	2. Препарат мышцы сенсibilизированного животного – 21 день сенсibilизации	7	7
	3. Механизмы влияния АТФ и аденозина, участие протеинкиназы-С	23	23
	4. Влияние АТФ. Мышцы сенсibilизированного животного	6	6
II. Камбаловидная мышца	1. Мышцы интактного животного	42	42
	2. Мышцы сенсibilизированного животного – 21 день сенсibilизации	12	12
	3. Влияние АТФ. Мышцы интактного животного	8	8
	4. Влияние АТФ. Мышцы сенсibilизированного животного	6	6
III. Длинный разгибатель пальцев	1. Мышцы интактного животного	34	34
	2. Мышцы сенсibilизированного животного – 21 день сенсibilизации	5	5
	3. Влияние АТФ. Мышцы интактного животного	8	8
	4. Влияние АТФ. Мышцы сенсibilизированного животного	6	6
ИТОГО		177	177

Таблица 2. Объем материалов исследования в различных экспериментальных моделях при изучении некантовой секреции ацетилхолина поперечно-полосатых мышц мыши

Мышца	Экспериментальная модель	Количество	
		Экс-тов	Животных
I. Диафрагмальная мышца	1. Препарат мышцы интактного животного	150	6
	2. Препарат мышцы сенсibilизированного животного – 21 день сенсibilизации	175	7
	3. Влияние АТФ. Мышцы интактного животного	150	6
	4. Влияние АТФ. Мышцы сенсibilизированного животного	150	6
II. Камбаловидная мышца	1. Мышцы интактного животного	150	6
	2. Мышцы сенсibilизированного животного – 21 день сенсibilизации	150	6
	3. Влияние АТФ. Мышцы интактного животного	150	6
	4. Влияние АТФ. Мышцы сенсibilизированного животного	150	6
III. Длинный разгибатель пальцев	1. Мышцы интактного животного	175	7
	2. Мышцы сенсibilизированного животного – 21 день сенсibilизации	175	7
	3. Влияние АТФ. Мышцы интактного животного	150	6
	4. Влияние АТФ. Мышцы сенсibilизированного животного	150	6
ИТОГО		1875	75

Методика моделирования патологического процесса. Сенсibilизация животных осуществлялась яичным альбумином (ОА) с гелем гидроокиси алюминия («Sigma», USA) (10 мкг белка + 1 мг сухого вещества геля в 1 мл физиологического раствора), подкожно, дважды, вторая инъекция через 14 дней после первой. В эксперимент животное забиралось на 24 день после первой сенсibilизирующей инъекции [Anderson P.J. et al., 1981]. Контроль сенсibilизации проводился методом пассивной кожной анафилаксии [Levin B. et al., 1970]. Титр антител в сыворотки крови имел значения от 1/256 до 1/1024.

Для наркоза использовали этаминал натрия (внутримышечно в дозе 50 мг/кг массы тела). Эвтаназия животных проводилась внутримышечным введением летальной дозы используемого наркотического препарата.

Полученные результаты подвергались статистической обработке (BIostatistica, S.A. Glantz, McGraw Hill). Для анализа данных использовался t-критерий Стьюдента. При вероятности (p) не больше 0,05 разницу считали достоверной. Результаты представлены в виде $X \pm Sx$ (n), где X – среднее арифметическое значение, Sx – средняя ошибка, n – количество наблюдений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние белковой сенсibilизации на сократительные свойства поперечнополосатых мышц.

Для «смешанной» мышцы – полоски диафрагмы (n=10) – несенсibilизированной мышцы показано, что Кх (2×10^{-4} М) вызывал сокращение силой $342,8 \pm 18,54$ мг (Рос* - $49,20 \pm 1,75$ мг/мм³). Белковая сенсibilизация приводила к увеличению силы - $448,29 \pm 19,16$ мг (Рос* - $58,66 \pm 3,97$ мг/мм³ (p<0,01)) сокращения «смешанной» мышцы (n=10) (Таблица 4).

Для «быстрой» мышцы (ДРП) несенсibilизированной мышцы в 33 экспериментах показано, что Кх (7×10^{-4} М) вызывал сокращение силой

76,6±6,1 мг (Рос* - 9,94±0,39 мг/мм³). При БС (8 экспериментов) сила сокращения «быстрой» мышцы уменьшалась - до 61,92±12,42 мг (Рос* 5,65±0,82 мг/мм³ (p<0,01) или до 56,8%) (Таблица 4).

Для «медленной» КМ несенсибилизированной мыши показано, что Кх ($5 \times 10^{-4} \text{M}$) вызывал сокращение силой 237,8±20,6 мг (Рос* - 35,61±1,67 мг/мм³) (n=34). БС приводила к увеличению силы - 353,2±23,1 мг (Рос* - 54,18±4,99 мг/мм³ (p<0,01)) сокращения «медленной» мышцы (n=11) (Таблица 4).

Показано, что, несмотря на сходство биометрических показателей (длины и массы мышечных препаратов), сила сокращения вышеперечисленных мышц сильно различается (Таблицы 4). Очевидно, что причины обнаруженных различий заключаются в разнородности их волоконного состава. Камбаловидная мышца мыши (КМ) содержит 50-60% «медленных» волокон, ДРП на 97-100% состоит из «быстрых» [Florendo J.A. et al. 1983]. Диафрагма мыши, занимающая промежуточное положение, содержит 88,6% быстрого миозина [Blank S, et al. 1988]. Обнаруженные различия в силе, очевидно, являются следствием различной чувствительности МВ к Кх, что может находиться в прямой зависимости от площади синаптического образования. Как известно [Fahim M.A. et al. 1984], размеры концевой пластинки у «медленных» МВ камбаловидной мышцы мыши в 3 раза протяженнее, чем у МВ «быстрой» (ДРП). Принимая во внимание сходство биометрических параметров исследованных мышц, большая сила сокращения на Кх у КМ и диафрагмы должна являться следствием большей их чувствительности к холиномиметику, обуславливающейся большим числом холинорецепторов (ХР) в области синапса.

Таблица 3. Биометрические показатели *m. EDL*, *m. Diaphragma*, *m. Soleus* у несенсибилизированных (контроль) и сенсибилизированных (опыт) мышей.

	ДРП		Диафрагма		КМ	
	Длина, мм	Масса, мг	Длина, Мм	Масса, мг	Длина, Мм	Масса, мг
Контроль	8,21±0,14	7,57±0,21	6,50±0,27	7,00±0,39	7,20±0,10	6,53±0,18
Опыт	9,00±0,25	10,08±0,40	6,14±0,26	7,79±0,53	7,85±0,15	6,31±0,24

Изучение влияния БС на сократительную функцию вышеперечисленных мышц (Таблица 4) показало, что все они при белковой сенсибилизации изменяют характеристики своего сокращения на Кх. У «быстрой» - силовые характеристики мышцы (Рос*) снижаются (Таблица 4). У «медленной» и «смешанной» - возрастают (Таблица 4).

Влияние белковой сенсибилизации на некантовую секрецию Ах поперечно-полосатых мышц.

Одним из факторов, определяющим силу сокращения является чувствительность МВ к холинотрофику. Различия в изменениях силы сокращения, характеризующие, в первую очередь, холиноопосредованные процессы возбуждения МВ, носят для «быстрых» мышц с одной стороны и «медленных» и «смешанных» с другой разнонаправленный характер.

Очевидно, что причинами этого могут являться как в исходных различиях морфо-функционального статуса исследуемых СМ, так и механизмы его изменения в процессе аллергической перестройки организма.

Изменения, которые возникают в МВ в ходе сенсибилизации могут затрагивать поверхностную мембрану, включая постсинапс [Адо А.Д., 1984], механизмы ЭМС [Гущин И.С., 1973] либо систему сократительных белков [Девятаев А.М. и др., 1994]. Отсутствие изменений скорости сокращения на субмаксимальные концентрации агониста у всех мышц не позволяет нам предполагать изменений в системе ЭМС.

Разнонаправленность векторов изменения силы у «быстрой» мышцы с одной стороны и «смешанной» и «медленной» с другой указывает на принципиальные различия в механизмах изменения функциональных свойств этих мышц. Эти изменения не могут быть напрямую связаны с размерами постсинапса, а должны определяться его функциональными свойствами. По-видимому, БС по-разному влияет на механизмы возбуждения постсинаптической мембраны у различных мышц.

Для подтверждения этого предположения динамика силы сокращения мышцы на Кх сопоставлялась нами с изменением уровня неквантовой секреции Ах в зоне концевой пластинки. Показано, что у всех изученных мышц при БС вектор изменения силы коррелирует с изменением Н-эффекта (Таблицы 4 и 5). Таким образом, снижение силы сокращения «быстрой» мышцы на Кх (до 56,8%) ($p < 0,05$) является следствием уменьшения чувствительности ее постсинапса к холиномиметику, что проявляется в увеличении Н-эффекта (до 113,7%) ($p < 0,05$) (Таблицы 4 и 5, Рисунок 1). То есть повышение неквантовой секреции Ах вызывает усиление механизмов десенситизации холинорецепторов постсинаптической мембраны. Соответственно, у «смешанной» и «медленной» мышц наблюдается обратная картина. Увеличение силы сокращения на Кх (до 140,16% ($p < 0,05$) и 152,1% ($p < 0,05$) соответственно) является следствием увеличения чувствительности постсинапса к холиномиметику, т.е. снижением Н-эффекта (до 84,61% ($p < 0,05$) и 62,0% ($p < 0,05$) соответственно) (Таблицы 4 и 5, Рисунок 2 и 3).

Участие АТФ в механизмах изменения функциональных свойств поперечнополосатых мышц при белковой сенсibilизации.

Различия в изменении сократительной функции СМ при БС являются следствием изменения чувствительности постсинаптической мембраны к ацетилхолину, определяемому уровнем неквантовой секреции ацетилхолина, то есть определяются динамикой холиноопосредованных процессов возбуждения мембраны МВ.

Дальнейшие исследования были посвящены поиску возможных причин, определяющих вариабельность уровня неквантовой секреции Ах в мышцах при БС. Представляется маловероятным, что обнаруженные нами сдвиги являются следствием изменения морфологических, структурных констант СМ. Очевидно, что в их основе лежат изменения функциональных свойств холиновозбудимой мембраны, что может быть следствием изменений в механизмах выделения кофакторов синаптической передачи. Опираясь на данные литературных источников [Tsai T.L. et all., 2009], показавших участие пуринов в генерации иммунного ответа мы предположили возможное участие АТФ в механизмах изменения функциональных свойств СМ при БС.

Было проведено исследование функционального состояния «быстрых», «смешанных» и «медленных» мышц мыши методами изучения сократительных свойств и неквантовой секреции ацетилхолина после влияния экзогенной АТФ. Вопрос влияния АТФ (в том числе и экзогенной) на СМ имеет самостоятельную ценность, поскольку механизмы регуляции их функций с участием пуринов, в отличии от гладкой и сердечной мышц, до настоящего времени плохо исследованы.

Предположение, что АТФ как кофактор синаптической передачи может являться одной из причин, вызывающих изменения состояния холиновозбудимой мембраны изолированных мышц мыши при сенсibilизации определило поиск возможных различий в динамике функциональных показателей - силы сокращения на Кх и уровня неквантовой секреции Ах – у интактных и сенсibilизированных мышей после влияния на мышцу АТФ.

Для «быстрой» (ДРП) мышцы показано, что инкубация с АТФ у несенсibilизированных мышей уменьшала силу Кх-вызванного сократительного ответа с $72,2 \pm 19,5$ мг до $52,4 \pm 11,0$ мг ($p < 0,01$) (Таблица 4). Н-эффект в контроле составлял $5,1 \pm 0,4$ мВ. После инкубации с АТФ Н-эффект практически не менялся и составлял в описанных условиях

эксперимента $4,8 \pm 0,5$ мВ (Таблица 5).

У ДРП сенсibilизированных мышей инкубация с АТФ уменьшала силу сократительного ответа на Кх с $59,5 \pm 3,3$ мг до $44,5 \pm 3,3$ мг ($p < 0,01$) (Таблица 4). Изучение некантовой секреции Ах показало, что Н-эффект в контроле составляющий $5,8 \pm 0,5$ мВ после инкубации с АТФ не изменялся и составлял $5,3 \pm 0,5$ мВ (Таблица 5).

Для «смешанной» мышцы – полоски диафрагмы – несенсибилизированной мышцы показано, инкубация с АТФ увеличивала силу Кх-вызванного сокращения с $335,2 \pm 93,47$ мг до $425,2 \pm 100,9$ мг ($p < 0,05$) (Таблица 4). Динамика некантовой секреции Ах показала, что Н-эффект в контроле составляющий $5,2 \pm 0,4$ мВ ($n=150$) после инкубации с АТФ снижался до $1,5 \pm 0,5$ мВ ($p < 0,001$) (Таблица 5).

У полоски диафрагмы сенсibilизированных мышей инкубация с АТФ увеличивала силу Кх-вызванного сокращения с $469,83 \pm 86,78$ мг до $540,67 \pm 80,34$ мг ($p < 0,05$) (Таблица 4) и уменьшала Н-эффект с $4,4 \pm 0,5$ мВ до $2,4 \pm 0,6$ мВ ($p < 0,001$) (Таблица 5).

Для «медленной» КМ несенсибилизированной мышцы показано, инкубация с АТФ увеличивала силу Кх-вызванного сокращения *m.Soleus* с $180,5 \pm 6,8$ мг до $224,3 \pm 12,9$ мг ($p < 0,01$) (Таблица 4). Динамика некантовой секреции Ах показала, что Н-эффект в контроле составляющий $5,0 \pm 0,7$ мВ после инкубации с АТФ снижался до $1,0 \pm 0,5$ мВ ($p < 0,05$) (Таблица 5).

У КМ сенсibilизированных мышей инкубация с АТФ увеличивала силу Кх-вызванного сокращения с $235,67 \pm 19,55$ мг до $264,33 \pm 21,09$ мг ($p < 0,01$) (Таблица 4). Н-эффект, в контроле составляющий $3,1 \pm 0,6$ мВ после инкубации с АТФ снижался до $2,1 \pm 0,5$ мВ ($p < 0,05$) (Таблица 5).

Показано, что и у интактных и у сенсibilизированных животных на полосках диафрагмы и КМ АТФ повышает силу их сокращения на Кх и снижает этот показатель у ДРП. Уровень некантовой секреции Ах у диафрагмы и КМ снижается, у ДРП не изменяется. У диафрагмы и КМ вектор динамики силы и величины Н-эффекта при влиянии АТФ совпадал с

такowymi при БС, что позволило нам предположить логику в последовательности событий, когда увеличение силы сокращения является следствием возрастания чувствительности постсинапса к холиномиметику (Рисунок 2, 3). При сенсibilизации влияние АТФ на динамику вышеперечисленных свойств и у диафрагмы, и у КМ демонстрирует ту же направленность, что указывает на отсутствие принципиальных различий в механизмах влияния пуринов на «медленную» и «смешанную» мышцы интактных и сенсibilизированных мышцей (Рисунок 2, 3).

Однако, если сила сокращения диафрагмы интактных животных после влияния АТФ возрастала на 26,8%, то у сенсibilизированных - лишь на 15,1% ($p < 0,05$) (Таблица 4). Н-эффект у этой мышцы несенсibilизированных мышцей после влияния АТФ снижался до 28,8% от исходного, у сенсibilизированных же лишь до 54,5% ($p < 0,05$) (Таблица 5). Менее выраженная динамика функциональных свойств диафрагмы, вызванная АТФ у сенсibilизированных мышцей в сравнении с контролем позволяет нам предполагать ее участие в механизмах функциональных изменений дыхательных мышц при БС (Рис. 2).

Динамика функциональных свойств «медленной» мышцы имеет сходную картину. Если сила сокращения КМ интактных животных возрастала на 24,3%, то у сенсibilизированных - лишь на 12,2% ($p < 0,05$). Величина Н-эффекта КМ несенсibilизированных мышцей после влияния АТФ снижался до 20% от исходного, у сенсibilизированных же лишь до 67,7% ($p < 0,05$). Менее выраженная динамика функциональных свойств КМ, вызванная АТФ у сенсibilизированных мышцей в сравнении с контролем также позволяет нам предполагать ее участие в механизмах функциональных изменений «медленных» мышц (Рисунок 3).

Таблица 4. Сократительные характеристики ДРП, Диафрагмы и КМ в различных экспериментальных моделях.

Экспериментальная модель / условия эксперимента	ДРП						Диафрагма						КМ						
	Параметры сокращения			Параметры сокращения			Параметры сокращения			Параметры сокращения			Параметры сокращения			Параметры сокращения			
	СТ, с	Рос, мг	Vос, мг/сек	СТ, с	Рос, мг	Vос, мг/сек	СТ, с	Рос, мг	Vос, мг/сек	СТ, с	Рос, мг	Vос, мг/сек	СТ, с	Рос, мг	Vос, мг/сек	СТ, с	Рос, мг	Vос, мг/сек	
1. Сенсбилизация																			
Контроль	6,29 ± 0,50	76,59 ± 6,51	14,26 ± 1,55	11,3 ± 0,63	342,8 ± 18,54	31,0 ± 1,7	17,32 ± 1,19	237,77 ± 20,61	13,10 ± 0,99	21,50 ± 1,05	353,25 ± 23,11	32,08 ± 0,89	17,32 ± 1,19	237,77 ± 20,61	13,10 ± 0,99	21,50 ± 1,05	353,25 ± 23,11	32,08 ± 0,89	
Опыт	5,40 ± 0,68	61,92 ± 12,42	13,62 ± 4,09	13,71 ± 0,42	448,29 ± 19,16	32,08 ± 0,89	13,71 ± 0,42	448,29 ± 19,16	32,08 ± 0,89	448,29 ± 19,16	32,08 ± 0,89	13,71 ± 0,42	448,29 ± 19,16	32,08 ± 0,89	13,71 ± 0,42	448,29 ± 19,16	32,08 ± 0,89	13,71 ± 0,42	448,29 ± 19,16
2. Инкубация с АТФ																			
Контроль	4,25 ± 0,39	75,2 ± 5,43	17,9 ± 0,69	10,7 ± 1,1	335,2 ± 93,4	25,6 ± 5,6	10,7 ± 1,1	335,2 ± 93,4	25,6 ± 5,6	10,7 ± 1,1	335,2 ± 93,4	25,6 ± 5,6	11,1 ± 0,9	185,4 ± 7,4	17,1 ± 0,9	11,1 ± 0,9	185,4 ± 7,4	17,1 ± 0,9	
Опыт	1,88 ± 0,18	52,4 ± 5,8	29,2 ± 1,48	7,3 ± 0,5	426,2 ± 110,0	47,8 ± 8,0	7,3 ± 0,5	426,2 ± 110,0	47,8 ± 8,0	7,3 ± 0,5	426,2 ± 110,0	47,8 ± 8,0	8,8 ± 0,5	232,6 ± 10,2	26,9 ± 1,7	8,8 ± 0,5	232,6 ± 10,2	26,9 ± 1,7	
3. Сенсбилизация + АТФ																			
Контроль	4,25 ± 0,39	75,2 ± 5,43	17,9 ± 0,69	9,75 ± 1,01	335,2 ± 93,47	28,08 ± 7,48	9,75 ± 1,01	335,2 ± 93,47	28,08 ± 7,48	9,75 ± 1,01	335,2 ± 93,47	28,08 ± 7,48	11,1 ± 0,9	180,5 ± 6,8	17,1 ± 0,9	11,1 ± 0,9	180,5 ± 6,8	17,1 ± 0,9	
Опыт	1,88 ± 0,18	52,4 ± 5,8	29,2 ± 1,48	8,00 ± 0,96	425,2 ± 100,9	44,56 ± 8,69	8,00 ± 0,96	425,2 ± 100,9	44,56 ± 8,69	8,00 ± 0,96	425,2 ± 100,9	44,56 ± 8,69	8,8 ± 0,5	224,3 ± 12,9	26,9 ± 1,7	8,8 ± 0,5	224,3 ± 12,9	26,9 ± 1,7	
Контроль	3,50 ± 0,22	59,5 ± 3,3	17,04 ± 0,65	14,83 ± 1,35	469,83 ± 86,78	31,88 ± 6,17	14,83 ± 1,35	469,83 ± 86,78	31,88 ± 6,17	14,83 ± 1,35	469,83 ± 86,78	31,88 ± 6,17	13,0 ± 1,24	235,67 ± 19,55	18,28 ± 0,54	13,0 ± 1,24	235,67 ± 19,55	18,28 ± 0,54	
Опыт	1,75 ± 0,11	44,5 ± 3,3	26,7 ± 5 ± 1,14	11,67 ± 1,23	540,67 ± 80,34	47,81 ± 7,07	11,67 ± 1,23	540,67 ± 80,34	47,81 ± 7,07	11,67 ± 1,23	540,67 ± 80,34	47,81 ± 7,07	10,0 ± 0,73	264,33 ± 21,09	26,70 ± 0,63	10,0 ± 0,73	264,33 ± 21,09	26,70 ± 0,63	

Таблица 5. Показатели некантовой секреции ацетилхолина у ДРП, Диафрагмы и КМ в различных экспериментальных моделях.

Экспериментальная модель / условия эксперимента	ДРП			Диафрагма			КМ			
	МП покоя	МП покоя + ТБК	Н-эффект	МП покоя	МП покоя + ТБК	Н-эффект	МП покоя	МП покоя + ТБК	Н-эффект	
1. Сенсibilизация										
Контроль	72,3 ± 0,6	77,4 ± 1,6	5,1 ± 0,4	70,7 ± 1,9	75,9 ± 0,7	5,2 ± 0,4	70,9 ± 1,7	75,9 ± 1,3	5,0 ± 0,7	
Опыт	73,9 ± 0,5	79,7 ± 1,7	5,8 ± 0,5 *	70,0 ± 1,5	74,4 ± 0,6	4,4 ± 0,5 *	69,4 ± 0,9	72,5 ± 1,0	3,1 ± 0,6 *	
2. Инкубация с АТФ										
Контроль	72,3 ± 0,6	77,4 ± 1,6	5,1 ± 0,4	70,7 ± 1,9	75,9 ± 0,7	5,2 ± 0,4	70,9 ± 1,7	75,9 ± 1,3	5,0 ± 0,7	
Опыт	72,5 ± 0,7	77,3 ± 1,1	4,8 ± 0,5	70,0 ± 0,4	71,5 ± 0,5	1,5 ± 0,5 ***	70,5 ± 0,4	71,5 ± 0,3	1,0 ± 0,5 *	
3. Сенсibilизация + АТФ										
Интактные Мыши	Контроль	72,3 ± 0,6	77,4 ± 1,6	5,1 ± 0,4	70,7 ± 1,9	75,9 ± 0,7	5,2 ± 0,4	70,9 ± 1,7	75,9 ± 1,3	5,0 ± 0,7
	Опыт	72,5 ± 0,7	77,3 ± 1,1	4,8 ± 0,5	70,0 ± 0,4	71,5 ± 0,5	1,5 ± 0,5 ***	70,5 ± 0,4	71,5 ± 0,3	1,0 ± 0,5 *
Сенсibilизированные Мыши	Контроль	73,9 ± 0,5	79,7 ± 1,7	5,8 ± 0,5	70,0 ± 1,5	74,4 ± 0,6	4,4 ± 0,5	69,4 ± 0,9	72,5 ± 1,0	3,1 ± 0,6 *
	Опыт	74,0 ± 0,8	79,3 ± 1,4	5,3 ± 0,5	69,1 ± 0,4	71,5 ± 0,6	2,4 ± 0,6 ***	69,0 ± 0,5	71,1 ± 0,5	2,1 ± 0,5 *

Примечание: * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

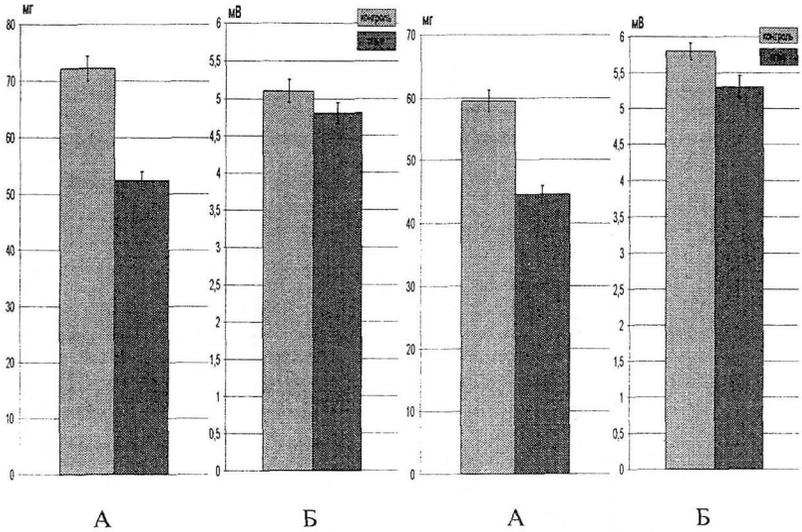


Рисунок 1. Функциональные характеристики изолированных ДРП intactных и сенсibilизированных мышей до (контроль) и после (опыт) влияния АТФ: А) сила сокращения, вызванного Кх; Б) величина Н эффекта.

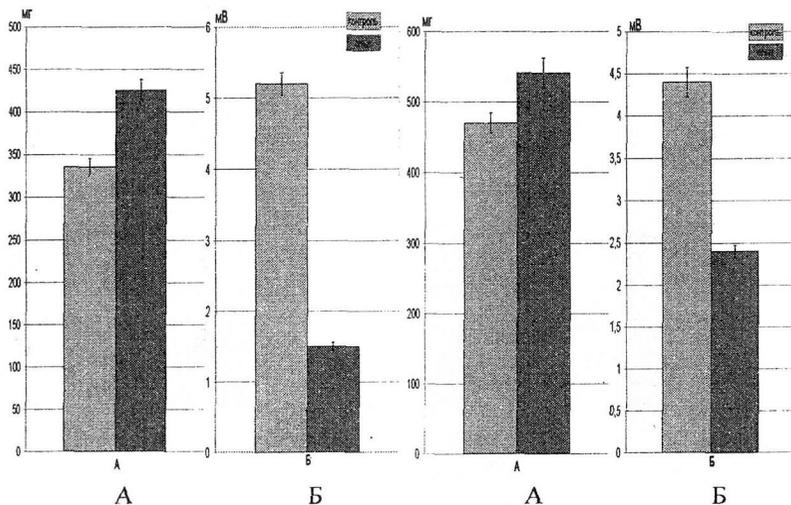


Рисунок 2. Функциональные характеристики изолированных полосок диафрагмы intactных и сенсibilизированных мышей до (контроль) и после (опыт) влияния АТФ: А) сила сокращения, вызванного Кх; Б) величина Н эффекта.

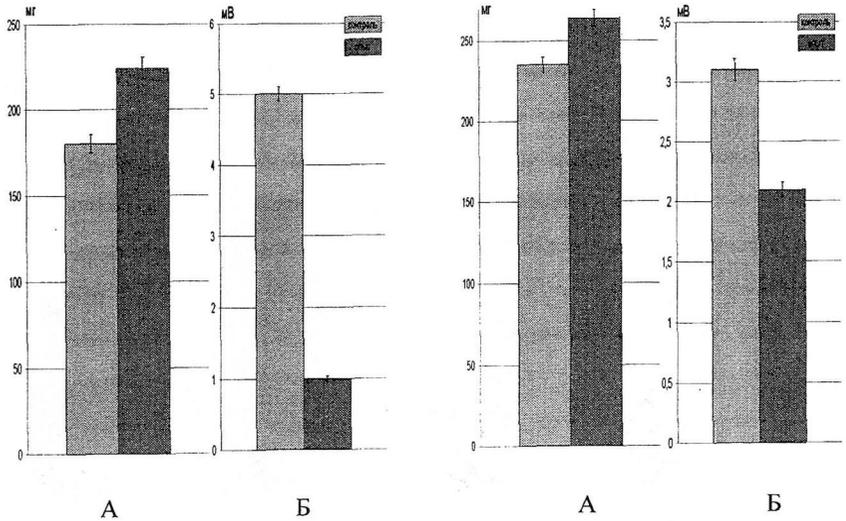


Рисунок 3. Функциональные характеристики изолированных КМ интактных и сенсibilизированных мышей до (контроль) и после (опыт) влияния АТФ: А) сила сокращения, вызванного Кх; Б) величина Н эффекта.

У ДРП интактных животных снижение силы сокращения после влияния АТФ (до 72,6%) практически не отличалась от таковой у сенсibilизированных (до 74,8%) (Таблица 4). Н-эффект ДРП после влияния АТФ достоверно не менялся ни у интактных ни у сенсibilизированных мышей (Таблица 5). Отсутствие различий в изменении силы сокращения и Н-эффекта после влияния АТФ у обеих групп животных свидетельствует о неучастии пуринов в механизмах изменения сократительной функции «быстрой» мышцы, вызванных БС (Рисунок 1).

Влияние АТФ на сократительную функцию всех трех изучаемых мышц аналогично таковому у большинства других СМ и осуществляется через P2-рецепторы. Это подтверждается и литературными данными, и результатами собственных исследований. Сурамин, антагонист P2-рецепторов устранял влияния АТФ во всех экспериментальных моделях, и у интактных и у сенсibilизированных мышей. Кроме того, замена АТФ на аденозин, реализующий свое действие не через P2, а через аденозиновые P1-рецепторы [Burnstock G., 2006] не изменяла ни параметров Кх-вызванного сокращения мышцы, ни величины Н-эффекта.

Механизмы влияния АТФ на поперечнополосатые мышцы включают в себя как прямое действие пуринов на их контрактильную функцию, так и влияние на некоторые этапы генерации иммунного ответа. В первом случае это влияние на секрецию медиатора и системы внутриклеточных посредников поперечнополосатых мышц [Giniatullin R.A. et al., 1998; Galkin A.V. et al., 2001]. Также мы можем предположить ее способность через АТФ-активируемые калиевые каналы [Pelaia G. et al., 2002; Tsai T.L. et al., 2009] усиливать специфическое звено иммунитета [Yochimoto T. et al., 2000; Schmitz J et al., 2005; Mariathasan S., Monack M. 2007].

Можно предположить следующий механизм, обеспечивающий пластичность «медленных» фазных мышц в условиях аллергической перестройки (Схема 1). В наших экспериментах экзогенная АТФ, добавляемая в ванночку снижает некантовую секрецию Ах, чем уменьшает десенситизацию ХР

постсинаптической мембраны, то есть повышает их чувствительность к холиномиметику и, как следствие, увеличивает силу сократительного ответа. В ходе генерации аллергической реакции в тканях, окружающих мышцу появляется внеклеточная АТФ. Вырабатываемая дендритными клетками и макрофагами при стимуляции (паракринной и аутокринной) выработки ими ИЛ-1, АТФ является одним из факторов, обеспечивающих развитие аллергической реакции [Ferrari D. et al., 2006]. Концентрация АТФ в среде при этом может достигать 20-200мМ [Beigi, R. et al., 1999; Pellegatti P. et al., 2005]. Но одновременно, регулируя по принципу обратной связи интенсивность некантовой секреции Ах АТФ выполняет роль кофактора синаптической передачи. Повышение уровня АТФ в среде, в том числе и в ткани самой мышцы обеспечивает более эффективную работу механизма увеличения силы сокращения мышцы за счет повышения чувствительности к агонисту. В условиях наших экспериментов это проявляется в следующем. Экзогенная АТФ у интактной мышцы почти полностью устраняет некантовый выход АХ. То есть, запас возможностей по реализации описываемого биологического механизма существенно истощается. При сенсibilизации наличие эндогенной АТФ, которая присутствует в среде, частично перекрывает потенциал снижения некантовой секреции Ах и добавление экзогенной АТФ на этом фоне уже не позволяет достигать ожидаемого результата. По этой причине в условиях БС изменение некантовой секреции Ах и силы сокращения мышцы на холиномиметик к экзогенной АТФ в представленных экспериментах у «медленной» и «смешанной» мышц менее выражено, чем в контроле.



Схема 1. Механизмы пластичности «медленных» и «смешанных» фазных мышц в условиях белковой сенсibilизации

Таблица 6. Участие пуринергической и холинергической систем в механизмах пластичности мышечной системы мышцы в условиях белковой сенсibilизации

	Гладкая мышца	Поперечно-полосатая фазная мышца	
		«медленная»	«быстрая»
Пуринергическая система (АТФ, P2 рецепция)	Увеличение синтеза рецепторов	Регуляторная функция	(не участвует)
Холинергическая система (АХ, холинорецепция)	Увеличение синтеза рецепторов	Реализация эффектов	Реализация эффектов
	Гиперреактивность гладких мышц	Повышение чувствительности постсинапса к ацетилхолину	Снижение чувствительности и постсинапса к ацетилхолину

Механизмы пластичности СМ в условиях БС определяются состоянием холинозбудимой постсинаптической мембраны (Таблица 6). Динамика силы сокращения на Кх у всех мышц в изучаемой патологии коррелирует с изменением чувствительности постсинапса к Ах, и у различных типов мышц это является причиной разнонаправленного характера изменений. Показано участие в этих процессах двух систем: холинергической и пуринергической. Если у гладких мышц гиперреактивность является следствием повышения синтеза обоих типов рецепторов, что усиливает способность этих структур к сократительной деятельности, то у поперечнополосатых мышц происходит унификация и оптимизация описываемых механизмов. ХР, локализуясь в области постсинаптической мембраны, остаются единственными участниками генерации мышечного сокращения. Регуляторная же функция у «медленных» мышц отдается пуринергической системе, обеспечивающей вариабельность эффектов за счет механизмов десенситизации. Изменение чувствительности постсинапса к Ах достигается регуляцией тока его некантовой секреции, а не количества самих рецепторов, что позволяет оперативно реагировать на динамично изменяющуюся ситуацию.

При экспериментальной аллергии у «медленных» и «смешанных» фазных мышц в основе развития устойчивости к длительным внешним нагрузкам лежат АТФ-зависимые механизмы регуляции их чувствительности к ацетилхолину. Описанные процессы обеспечивают увеличение работоспособности при продолжительной физической деятельности, а так же снижение утомляемости дыхательных мышц в условиях гипоксии, возникающей при хронической обструктивной болезни легких, бронхоспастическом синдроме и бронхиальной астме.

У «быстрых» фазных мышц мыши при БС АТФ не участвует в обеспечении пластичности. Изменение сократительной функции в этих условиях, очевидно, определяется иными, не связанными с АТФ механизмами.

Вышесказанное позволяет сделать следующие выводы:

ВЫВОДЫ

1. Белковая сенсibilизация приводит к изменению функционального состояния поперечнополосатых мышц у мышей, что проявляется в изменении характеристик их сокращения *in vitro* на холиномиметик и уровня неквантовой секреции ацетилхолина. Характер изменения функциональных свойств поперечнополосатых мышц при белковой сенсibilизации зависит от соотношения составляющих их мышечных волокон.

2. Увеличение силы сокращения на карбахолин у Камбаловидной и Диафрагмальной мышц мыши *in vitro* при белковой сенсibilизации является следствием повышения чувствительности постсинаптической мембраны мышечных волокон к холиномиметику, что обусловлено снижением уровня неквантовой секреции ацетилхолина в зоне концевой пластинки.

Уменьшение силы сокращения на карбахолин Длинного Разгибателя Пальцев мыши *in vitro* при белковой сенсibilизации является следствием снижения чувствительности постсинаптической мембраны мышечных волокон к холиномиметику, что обусловлено увеличением уровня неквантовой секреции ацетилхолина в зоне концевой пластинки.

3. Экзогенная АТФ уменьшает силу сокращения у Длинного Разгибателя Пальцев мыши на карбахолин *in vitro* и не изменяет уровень неквантовой секреции ацетилхолина в зоне концевой пластинки.

4. Белковая сенсibilизация не влияет ни на степень изменения сократительной функции Длинного Разгибателя Пальцев мыши, вызванную экзогенной АТФ и не изменяет неквантовой секреции ацетилхолина в зоне концевой пластинки.

Отсутствие различий в изменении силы сокращения и неизменность Н-эффекта после влияния АТФ у сенсibilизированных и несенсibilизированных животных свидетельствует о неучастии пуринов в механизмах изменения сократительной функции «быстрой» мышцы мыши, вызванных белковой сенсibilизацией.

5. Экзогенная АТФ увеличивает силу сокращения у Камбаловидной мышцы и полоски диафрагмы мышцы на карбахолин и снижает уровень неквантовой секреции ацетилхолина в зоне концевой пластинки мышечных волокон этих мышц.

Возрастание силы сокращения на карбахолин у Камбаловидной и диафрагмальной мышц мышцы *in vitro*, вызванное экзогенной АТФ определяется повышением чувствительности постсинаптической мембраны мышечных волокон к холиномиметику, что является следствием снижения уровня неквантовой секреции ацетилхолина в зоне концевой пластинки.

6. Белковая сенсibilизация изменяет степень влияния экзогенной АТФ на функциональные свойства Камбаловидной и Диафрагмальной мышц мышцы, снижая динамику силы сокращения мышцы на карбахолин вследствие адекватного изменения неквантовой секреции ацетилхолина в зоне концевой пластинки.

Белковая сенсibilизация снижает динамику функциональных свойств диафрагмы мышцы, вызванную экзогенной АТФ, что свидетельствует о развитии механизмов резистентности дыхательных мышц к внешним нагрузкам, возникающим у них при обструктивных формах нарушения внешнего дыхания аллергической природы.

Список работ, опубликованных по теме диссертации.

1. Возможные механизмы аллергических реакций скелетных мышц. Бюллетень Экспериментальной Биологии и Медицины. - 1996, Т.122., N 11.- С.547-550.(в соавторстве с Рахматуллин И.М., Девятаевым А.М., Валдуллин В.В.).
2. Выявление внутриклеточных метаболических посредников изолированной диафрагмы мыши. В сб. «Научно-практическая конференция молодых ученых. Тезисы докладов». Казань. 2003. с.93-95. (в соавт. с Гришиным С.Н.).
3. Взаимовлияние различных активаторов риаодиновых рецепторов скелетной мускулатуры лягушки. В сб «Рецепция и внутри-клеточная сигнализация.» Международная конференция. Пушино. 2003. с.201-203. (в соавторстве с Зефировым А.Л, Гришиным С.Н, Ситдиковой Г.Ф. Шакирзяновой А.Б.)
4. ATP influence on mechanisms of the contraction and reception of mediator in mouse diaphragm muscle. *J.Muscle Research and Cell Motility*. V.24, N 4-6. 2003. P.332. (S.N. Grishin, A.M. Devjataev A.L. Zefirov).
5. *Изменение параметров N-этилмалеимид-вызванного сокращения скелетной мышцы активными формами кислорода. 18 н-практ. конф. гистологов «Фундаментальные и прикладные проблемы гистологии. Гистогенез и регенерация тканей» С-П, 7-8 апреля.2004. с.58-59. (в соавторстве с Зефировым А.Л, Гришиным С.Н, Ситдиковой Г.Ф. Шакирзяновой А.Б.)*
6. Сократительная функция и состояние постсинаптической мембраны диафрагмы и m.EDL мыши: роль АТФ.(Contractility and condition of postsynaptic membrane of mouse diaphragm and m. EDL:The role of ATP). Вторая межд. конф. "Патофизиология и современная медицина", 22-24 апреля 2004 г. Москва. с. 383-386. (в соавторстве с Зефировым А.Л, Гришиным С.Н.)
7. ATP modulation of the contractility and condition of postsynaptic membrane of the mouse diaphragm and m. EDL. BIOLOGICAL MOTILITY" International. Symposium May 23 – June 1, Pushchino, 2004, p.159-161. (в соавторстве с Зефировым А.Л, Гришиным С.Н.)
8. The active forms of oxygen change the skeletal muscle contraction, induced by N-ETHYLMALAIMIDE. EDL. BIOLOGICAL MOTILITY" International. Symposium May 23 – June 1, Pushchino, 2004, p.158-159. (в соавторстве с Зефировым А.Л, Гришиным С.Н, Ситдиковой Г.Ф. Шакирзяновой А.Б.)
9. *Роль протеинкиназы-С в механизмах влияния АТФ на сокращение полоски диафрагмы мыши in vitro. Бюллетень сибирской медицины. Том 4, 2005, Прил.1. р.120-121 «Тезисы докладов V- Сибирского физиологического съезда, г. Томск, 29-30 июня, 1 июля 2005г.».* (в соавторстве с Зефировым А.Л, Гришиным С.Н.)
10. Белковая сенсibilизация изменяет сократительные свойства быстрых и медленных мышц мыши in vitro. Межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием «Типовые патологические процессы», Уфа, 13-14.09.2005. Здравоохранение Башкортостана. Спец-выпуск N 7. 2005. С.201-202
11. Механизмы влияния белковой сенсibilизации на сократительную функцию изолированной m.EDL мыши. Материалы III Международной конференции «Болезни цивилизации в аспекте учения В.И.Венедского», Москва, 10-12 октября 2005. Москва – 2005. с.315-317. (в соавторстве с Зефировым А.Л, Гришиным С.Н.)
12. Участие протеинкиназы-С в механизмах изменения сократительной функции диафрагмы мыши in vitro, обусловленных АТФ. Актуальные проблемы медицинской науки, технологий и профессионального образования. Юбилейный выпуск.. посвящается 25-летию ГОУ ДПО УГМАДО Росздрава. Том II Челябинск. 2005 г. с.205-207.
13. Изменение сократительной функции «быстрых» и «медленных» мышц мыши in vitro при белковой сенсibilизации. Актуальные проблемы медицинской науки, технологий и профессионального образования. Юбилейный выпуск.. посвящается 25-летию ГОУ ДПО УГМАДО Росздрава. Том II Челябинск. 2005 г. с.207-208.

14. Механизм вызванного N-этилmaleимидом сокращения портяжной мышцы лягушки. Бюллетень Экспериментальной Биологии и Медицины. - 2006 , Т.141, N 3.- С.248-251. (в соавторстве с С.Н. Гришным, А.В. Шакирзяновой, И.М. Фатхутдиновым, В.В. Валуллиным, А.Л.Зефирным).

15. Роль протеникиназы-С в механизмах влияния АТФ на сократительную функцию изолированной полоски диафрагмы мышцы. Бюллетень Экспериментальной Биологии и Медицины. - 2006, Т 141, N 4.-С 389-392. (в соавторстве с С.Н. Гришным, А.У.Зиганшиным, А.Л.Зефирным).

16. Белковая сенсibilизация способна по разному изменять силу сокращения изолированных «быстрой» и «медленной» мышц мыши. Морфология. 2006, Т.129, N 2, - с.94. V Межд. конференция по функциональной нейроморфологии "Колосовские чтения – 2006". С.94.

17. Влияние АТФ на сократительные свойства изолированной т.SOLEUS мыши. Морфология. 2006, Т.129, N 2, - с.94-95.V Международная конференция по функциональной нейроморфологии "Колосовские чтения – 2006". С.94-95. (в соавторстве с Н.В.Бутиновой)

18. Possible mechanisms of influence albuminous sensitization on contractility of isolated m. EDL of mice. "Biological motility: Basic Research & Practice" International. Symposium May 11-15, Pushchino, 2006, p.- 141-142. (в соавторстве с С.Н. Гришным, А.Л.Зефирным)

19. Influence ATP on contractility property of isolated m. Soleus of the mouse. "Biological motility: Basic Research & Practice" International. Symposium May 11-15, Pushchino, 2006, p.- 140-141. (в соавторстве с Н.В.Бутиновой)

20. Возможные механизмы влияния белковой сенсibilизации на функциональное состояние изолированной скелетной мышцы мыши. Патогенез.- 2006, Т.4, N 1, с.69-70. Материалы IU Российской конференции по нейроиммунопатологии. Москва 11-12 мая 2006 г.

21. Белковая сенсibilизация способна по разному изменять сократительные свойства «быстрых» и «медленных» мышц мыши in vitro. Научно-практическая конференция молодых ученых. Тезисы докладов. 19 апреля 2006 г. Казань. 2006, с.239-240.

22. Влияние белковой сенсibilизации на сократительные свойства «быстрых» и «медленных» мышц мыши in vitro. Нижегородский медицинский журнал.- 2006, N 3.- с.21-24.

23. Different effects of ATP on the contractile activity of mice diaphragmatic and skeletal muscles. Neurochemistry International, 2006, N 49, p.756-763 (в соавторстве с Grishin S, Mukhamedyarov M, Zefirov A, Galkin A, Devyataev A, Ziganshin A, Burnstock G, Palotás A).

24. Белковая сенсibilизация изменяет сократительные свойства диафрагмальной мышцы мыши in vitro. Российский аллергологический журнал, 2007, № 3, приложение 1. Труды III Конгресса «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии». – 27-29 июня 2007 г. Москва. С.35-36. (в соавторстве с Дзамуковой Е.Г.).

25. Сократительная функция изолированных «быстрых» и «медленных» мышц мыши при белковой сенсibilизации.- Актуальные вопросы современной морфологии и физиологии. С-Петербург. 2007. с.363-366.

26. Возможные механизмы влияния белковой сенсibilизации на сократительную функцию изолированной m.EDL мыши.- Актуальные вопросы современной морфологии и физиологии. С-Петербург. 2007. с.361-363.

27. Сократительные свойства различных скелетных мышц мыши in vitro при белковой сенсibilизации определяются состоянием постсинаптической мембраны.-

Тезисы докладов XX съезда физиологического общества имени И.П. Павлова. Москва, 2007, с 440.

28. Mechanisms of influence of the albuminous sensitization on contraction function of «fast» and «slow» muscles of mouse *in vitro* are determined by condition of the postsynaptic membrane. - «Biological motility: Basic Research & Practice» International. Symposium May 11-15, Pushchino, 2008, p. - 117-119. (в соавторстве с С.Н. Гришным).

29. Возможные патофизиологические механизмы влияния белковой сенсибилизации на сократительную функцию изолированных поперечнополосатых мышц. - Межрегиональная научно-практическая конференция. с межд. участием «Морфо-функциональные аспекты нормы и патологии», Уфа, 2008. Медицинский вестник Башкортостана. Приложение N 2. 2008. С.71-76. (в соавторстве с С.Н. Гришным).

30. Механизмы изменения сократительной функции различных скелетных мышц *in vitro* в условиях иммуно-биологической перестройки организма. Научные труды II Съезда физиологов СНГ, Кишинев 29 – 31 октября 2008 г. Москва – Кишинэу, Медицина – Здоровье. - С.172. (в соавторстве с Гришным С.Н.).

31. Механизмы изменения функциональных свойств поперечно-полосатых мышц в условиях аллергической перестройки организма. Российский аллергологический журнал, 2009, № 3, выпуск 1. Труды X Конгресса «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии». – 20-23 мая 2009 г. Казань. С.308. (в соавторстве с Гришным С.Н., Фархутдиновым А.М.).

32. Possible mechanisms of change of functional proportion of striated diaphragmal muscles of the mouse of ovalbumin-induced sensitization. «Biological motility: Basic Research & Practice» International. Symposium May 11-15, Pushchino, 2010, p.82-85. (в соавторстве с Гришным С.Н., Фархутдиновым А.М.).

33. АТФ как возможный участник механизмов изменения сократительной функции изолированных скелетных мышц *in vitro* при аллергической перестройке организма. VI Всероссийская школа-конференция по физиологии мышц и мышечной деятельности «Системные и клеточные механизмы в физиологии двигательной системы и мышечной деятельности», МГУ им. М.В.Ломоносова, 1 - 4 февраля 2011 г. с. 35. (в соавторстве с Фархутдиновым А.М., Миннебаевым М.М.).

34. Участие АТФ в механизмах изменения сократительной функции поперечно-полосатых мышц *in vitro* при белковой сенсибилизации. - VI Всероссийская научно-практическая конференция «Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения» Санкт-Петербург. 2011. с.217-219 (в соавторстве с Торшиным В.И., Фархутдиновым А.М., Миннебаевым М.М.).

35. Влияние белковой сенсибилизации на сократительную функцию изолированной «быстрой» мышцы определяется состоянием постсинаптической мембраны. Генный ортопедии. - 2009, N 4.- С.30-32. (в соавторстве с С.Н. Гришным, А.М.Фархутдиновым).

36. Возможные механизмы влияния белковой сенсибилизации на сократительную функцию «быстрых» и «медленных» мышц. Бюллетень Экспериментальной Биологии и Медицины. - 2009, T 147, N 5.-С 487-492. (в соавторстве с С.Н. Гришным, А.Л.Зефиром).

37. Ovalbumin-induced sensitization affects non-quantal acetylcholine release from motor nerve terminals and alters contractility of skeletal muscles in mice. *Experimental Physiology*, 2009 Feb;94(2):264-268. (в соавторстве с Grishin S, Mukhamedyarov M, Ziganshin A, Zefirov A, Palotas A).

38. Возможные механизмы изменения сократительной функции изолированных поперечно-полосатых мышц *in vitro* при аллергической перестройке организма. - Профилактическая и клиническая медицина. №1 (34), 2010. с.105-110. (в соавторстве с С.Н. Гришным, А.М.Фархутдиновым).

39. Возможные механизмы влияния белковой сенсибилизации на функциональные свойства изолированных m.SOLEUS и m.EDL мышц. – Бюллетень Экспериментальной Биологии и Медицины. - 2010, Т 150, N 9, -С 262-266. (в соавторстве с Гришиным С.Н., Фархутдиновым А.М., Миннебаевым М.М.)

40. Механизмы влияния экзогенной АТФ на сократительную функцию изолированных поперечно-полосатых мышц мышцы. - Вестник Санкт-Петербургского университета./ Сер11.- вып.2. 2010. с.238-244. (в соавторстве с А.М.Фархутдиновым).

41. Extraneuronal toxicity of Alzheimer's β -amyloid peptide: Comparative study on vertebrate skeletal muscles. - Muscle Nerve. 2011 Jun;43(6):872-7. (в соавторстве с Mukhamedyarov MA, Grishin SN, Leushina AV, Zefirov AL, Palotás A.).

42. Разнонаправленное действие АТФ на силу сокращения тонической и фазной мышц лягушки. – Бюллетень Экспериментальной Биологии и Медицины.- 2011, Т 151, N 3, -С 251-254. (в соавторстве с С.Н. Гришиным, Р.Р. Камалиевым, А.У. Зиганшиным).

43. Возможные механизмы влияния белковой сенсибилизации на функциональные свойства диафрагмы и скелетной мышцы мышцы.- Медицинский вестник Башкортостана. Научно-практич. журнал.- 2011, Т.6, № 5. С.112-116. (в соавторстве с Торшиным В.И., Фархутдиновым А.М., Миннебаевым М.М.)

44. Механизмы изменения сократительной функции поперечнополосатых мышц мышцы *in vitro* при белковой сенсибилизации. Участие АТФ. - Вестник Оренбургского государственного университета / Серия Медицина.- 2011. № 131. С.307-311. (в соавторстве с Торшиным В.И.)

45. Возможное участие АТФ в механизмах влияния белковой сенсибилизации на функциональные свойства диафрагмы и скелетных мышц.- Казанский медицинский журнал- 2012. Т 93, № 1. С.113-116. (в соавторстве с Торшиным В.И., Гришиным С.Н., Фархутдиновым А.М., Миннебаевым М.М.)

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТФ	-	аденозинтрифосфат
Ах	-	ацетилхолин
БС	-	белковая сенсибилизация
ДРП	-	длинный разгибатель пальцев
КМ	-	камбаловидная мышца
Кх	-	карбахолин
МВ	-	мышечное волокно
ОА	-	овальбумин (яичный альбумин)
ПКА	-	пассивная кожная анафилаксия
СМ	-	скелетная мышца
ХР	-	холинорецептор
ЭМС	-	электро-механическое сопряжение

РЕЗЮМЕ

докторской диссертации А.Ю.Теплова «Механизмы изменения функциональных свойств поперечно-полосатых мышц при белковой сенсibilизации организма»

В данной работе изучалось участие АТФ в механизмах изменения сократительной функции поперечнополосатых мышц при белковой сенсibilизации (БС). Исследование проводилось на: «смешанной» - полоски диафрагмы, «быстрой» - длинный разгибатель пальцев (ДРП) и «медленной» - камбаловидной мышцы (КМ) мыши. Показано, что экзогенная АТФ влияет на силу сокращения *in vitro* и величину неквантовой секреции ацетилхолина в зоне концевой пластинки (Н-эффект) «смешанной» и «медленной» мышц как у сенсibilизированных к белку, так и у несенсibilизированных животных. Во всех случаях вектор изменений силы сокращения, вызванного холиномиметиком карбахолом коррелирует с изменениями Н-эффекта. Однако, степень этих изменений у сенсibilизированных животных менее выражена, чем у несенсibilизированных. Предположено, что у «смешанной» и «медленной» мышц при БС меньшая в сравнении с контролем изменчивость функциональных свойств, вызванная АТФ является свидетельством участия пуриnergических механизмов в развитии резистентности этих мышц к внешним нагрузкам. Причины изменения при БС сократительной функции «быстрой» мышцы не связаны с АТФ-опосредованными механизмами.

SUMMARY

of the dissertation «Mechanisms of change of functional properties of skeletal striated muscles at an protein sensitization» by A.Y.Teplov

We investigated the involvement of ATP in the mechanism of the effect of protein sensitization (PS) on contractile function and non-quantum secretion of acetylcholine in the area of end-plate (H-effect) of isolated skeletal muscles of leg (m. soleus and m. extensor digitorum longus (m. EDL)) and stripes m. diaphragma mouse. In m. soleus and m. diaphragma dynamics of the force vector of muscle contraction is correlated with changes in the H-effect in all the studied experimental models. However, the extent of these changes in sensitized animals is less pronounced. It has been suggested that ATP is a party change in the mechanisms of functional properties m. soleus and m. diaphragma in PS and reflects the development of resistance mechanisms in these muscles to external loads. The reasons for the changes in contraction force m. EDL PS not related to ATP-mediated excitation mechanism of the muscle.

