

Влияние белковой сенсibilизации на сократительную функцию изолированной «быстрой» мышцы мыши определяется состоянием постсинаптической мембраны

А.М. Фархутдинов¹, С.Н. Гришин², А.Ю. Теплов¹

The effect of protein sensitization on the contractile function of isolated "fast" mice muscle is determined by postsynaptic membrane condition

A.M. Farkhutdinov¹, S.N. Grishin², A.Yu. Teplov¹

Казанский государственный медицинский университет, г. Казань

¹кафедра патофизиологии (заведующий кафедрой – проф. М.М. Миннебаев)

²кафедра нормальной физиологии (заведующий кафедрой – чл.-корр. РАМН, профессор А.Л. Зефирова)

Исследованы механизмы влияния аллергической перестройки организма на сократительную функцию изолированной «быстрой» скелетной мышцы голени мыши – длинный разгибатель пальцев. Показано, что при белковой сенсibilизации сила сокращения, вызванного холинотиметиком карбахолитом у «быстрой» мышцы снижается. Показано также, что белковая сенсibilизация приводит к возрастанию неквантовой секреции ацетилхолина в зоне концевой пластинки мышечного волокна «быстрой» скелетной мышцы. Вектор изменения силы сокращения скелетной мышцы на холинотиметик при белковой сенсibilизации коррелирует с изменением неквантовой секреции ацетилхолина. Высказывается предположение, что механизмы изменения сократительной функции «быстрой» скелетной мышцы при белковой сенсibilизации обусловлены, в первую очередь, динамикой холиноопосредованных процессов возбуждения мембраны мышечных волокон скелетной мышцы.

Ключевые слова: скелетная мышца, длинный разгибатель пальцев, сократительные свойства, неквантовая секреция, белковая сенсibilизация, мышца.

The mechanisms of organism allergic reorganization on the contractile function of the isolated «fast» skeletal muscle of mice leg – extensor digitorum longus, have been studied. It has been demonstrated that in case of protein sensitization the contractile force of «fast» muscle produced by cholinergic carbacholone decreases. It has been also found that protein sensitization results in the decrease of acetylcholine non-quant secretion in the muscle fiber end-plate zone of «fast» skeletal muscle. The vector of contractile force change of skeletal muscle under cholinergic influence for protein sensitization correlates with the change in acetylcholine non-quantal secretion. It has been suggested, that the mechanisms of the change in «fast» skeletal muscle contractile function for protein sensitization are first of all caused by the dynamics of cholinergic processes of membrane excitation in skeletal muscle fibers.

Keywords: skeletal muscle, m.extensor digitorum longus, contractile characteristics, non-quant secretion, protein sensitization, mouse.

Как известно, аллергическая перестройка организма сопровождается изменением морфофункционального состояния скелетных мышц (СМ) [3]. Эти изменения способны затрагивать поверхностную мембрану [1], систему электро-механического сопряжения [3] либо сократительный аппарат [5] мышечных волокон теплокровных животных. Ранее нами было показано, что белковая сенсibilизация (БС) способна изменять сократительные свойства изолированных СМ морских свинок [5] и мышей [6]. Высказывалось предположение, что как для диафрагмы морской свинки, так и для мышц голени мыши одним из мест, подвергающихся этим изменениям, является холиночувствительная мем-

брана мышечного волокна.

Целью настоящей работы явилось изучение механизмов влияния белковой сенсibilизации на сократительную функцию изолированной «быстрой» мышцы голени мыши – длинного разгибателя пальцев (m. EDL).

Для достижения поставленной цели нами проведено комплексное исследование. В двух экспериментальных моделях, изучающих холиноопосредованные процессы возбуждения изолированных СМ, было рассмотрено влияние БС на параметры сократительного ответа СМ, вызываемого холинотиметиком карбахолитом (Кх), и на уровень неквантовой секреции ацетилхолина (Ах) в зоне концевой пластинки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводились на мышцах обоего пола массой тела 17-22 г. Животные сенсibil-

лизировались овалбумином (ОА) с гелем гидроксиалюминия (2 мкг сухого вещества геля +

150 мкг ОА в 0,5 мл физиологического раствора) внутривенно, дважды [4]. Вторая инъекция – через 14 дней после первой. В эксперимент животные забирались на 7-10-й день после второй сенсибилизирующей инъекции.

Для изучения функционального состояния СМ были выделены две группы (в каждой «контроль» и «опыт»). В первой изучалось сокращение СМ, которое вызывалось агонистом – холинотропным Кх. Механографические исследования проводились на препарате изолированной мышцы в условиях изометрии. Изометрический режим сокращения достигался растяжением препарата мышцы в ванночке в течение 20 минут с силой 0,5 г при постоянной перфузии раствором типа Кребса. Сокращение СМ регистрировалось фотоэлектрическим преобразователем [2]. Агонист подавался в концентрациях от 2×10^{-5} М до 3×10^{-3} М. Сократительная функция анализировалась по комплексу показателей, включающих в

себя силу (Рос), скорость (Vос), а также временные параметры сокращения мышцы – время развития максимального напряжения (СТ), время полурасслабления (RT/2) и время плато (Пл).

Вторая экспериментальная модель позволяла изучать состояние постсинаптической мембраны мышечного волокна (МВ) в области концевой пластинки [7]. Неквантовую секрецию Ах измеряли с помощью стеклянных микроэлектродов (сопротивлением 8-12 МΩ, заполненных 2,5 М KCl). Для определения ее величины сначала армином устранялось действие ацетилхолинэстеразы, после чего на мышцу в течение 8-12 минут апплицировался блокатор холинорецепторов d-тубокурарин (ТБК) (10^{-5} М). Разница значений мембранного потенциала (МП) до и после аппликации ТБК соответствует величине неквантовой секреции Ах (Н-эффект).

Эксперименты проводились при температуре 20-21 °С.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристики сокращения мышцы на Кх в различных концентрациях у несенсибилизированных и сенсибилизированных мышечных тканей показаны в таблице 1. Установлено, что сенсибилизация приводит к снижению силы сокращения m. EDL на Кх в субмаксимальной (7×10^{-4} М) концентрации с $76,6 \pm 6,1$ мг до $50,9 \pm 5,1$ мг ($p < 0,05$).

Изучение неквантовой секреции Ах продемон-

стрировало следующее: МП покоя, изначально составляющий $72,3 \pm 0,6$ мВ ($n=150$), в присутствии ТБК возрастал до $77,4 \pm 1,6$ мВ ($n=150$) (табл. 2). Таким образом, Н-эффект в контроле составляет $5,1 \pm 0,4$ мВ ($n=150$). В условиях белковой сенсибилизации значение Н-эффекта изменилось, составляя в описанных условиях эксперимента $5,8 \pm 0,5$ мВ ($n=150$) ($p < 0,005$) (табл. 2).

Таблица 1

Параметры сокращения изолированной *мышцы длинный разгибатель пальцев (m. EDL)* несенсибилизированных и сенсибилизированных мышечных тканей на Кх в субмаксимальной концентрации

Концентрация агониста	Условия эксперимента	Параметры сокращения					
		СТ (с)	RT/2 (с)	Рос (мг)	Рос* (мг/мм ³)	Vос (мг/с)	Пл (с)
7×10^{-4} М Кх	Контроль ($n=26$)	$6,29 \pm 0,50$	$22,53 \pm 1,81$	$76,59 \pm 6,51$	$9,94 \pm 0,39$ $n=7$	$14,26 \pm 1,55$	$3,13 \pm 0,27$
	Сенсибилизация ($n=5$)	$5,40 \pm 0,68$	$25,38 \pm 4,94$	$61,92 \pm 12,42$	$5,65 \pm 0,82^{***}$	$13,62 \pm 4,09$	$2,75 \pm 0,48$

Примечание: *** – $p < 0,001$.

Таблица 2

Функциональные характеристики силы сокращения на Кх 7×10^{-4} М (Рос*) и величины неквантовой секреции (Н-эффект) у препаратов *мышцы длинный разгибатель пальцев (m. EDL)* интактных и сенсибилизированных мышечных тканей

	Рос* (мг/мм ³)	Н-эффект (мВ)		
Интактные	$9,94 \pm 0,39$ ($n=7$)	$72,3 \pm 0,6 - 77,4 \pm 1,6$	$5,1 \pm 0,4$	$n=150$
Сенсибилизированные	$5,65 \pm 0,82$ ($n=5^{***}$)	$73,9 \pm 0,5 - 79,7 \pm 1,7$	$5,8 \pm 0,5$	$n=150^{**}$
	56,8 %	113,7 %		

Примечание: *** – $p < 0,001$; ** – $p < 0,01$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование механизмов влияния аллергической перестройки организма на сократительную функцию изолированной m. EDL мышцы показало, что белковая сенсибилизация снижает силу сокращения «быстрой» мышцы, вызванную холинотропным Кх, как в субмаксимальной концентрации. М. EDL мышцы по своему составу является почти 100 % «быстрой» мышцей [8, 9], что, очевидно, и определяет характер наблюдаемых изменений. Предположительно, БС способна вли-

ять на все этапы сокращения поперечнополосатой мышцы: возбуждение поверхностной мембраны [1], систему электромеханического сопряжения [3] и сократительные белки миоцита [5]. Поскольку в первой экспериментальной модели мышца сокращалась холинотропным, то одной из причин, приводящих к уменьшению силы ее сокращения на Кх, могло явиться изменение холиноопосредованных процессов возбуждения постсинаптической мембраны МВ. Выявлению этих механизмов

были посвящены дальнейшие исследования. Нами было проведено комплексное изучение механизмов влияния БС на функциональное состояние СМ, включающее в себя сопоставление изменения показателей сокращения мышцы, вызванного холиномиметиком с холиноопосредованными процессами возбуждения МВ. Было изучено влияние БС на неквантовую секрецию Ах в зоне концевой пластинки МВ (Н-эффект). Показано, что БС приводит к увеличению Н-эффекта в мышечных волокнах «быстрой» СМ. Таким образом, одновременность изменений: снижения силы сокращения «быстрой» мышцы на Кх и увеличения неквантовой секреции Ах в зоне концевой пластинки – заставляет предположить, что снижение силы сокращения СМ является следствием уменьшения чувствительности ее постсинаптической мембраны к холиномиметику.

Подводя итоги, необходимо сделать следующее заключение. Обнаруженные нами изменения функционального состояния СМ при БС характеризуют холиноопосредованные процессы возбуждения мембраны МВ. Вектор изменения силы сокращения СМ на холиномиметик коррелирует с изменением неквантовой секреции Ах. Это позволяет предположить, что механизмы изменения сократительной функции «быстрой» СМ при БС обусловлены, в первую очередь, динамикой холиноопосредованных процессов возбуждения мембраны МВ СМ. Снижение силы сокращения мышцы на Кх (рис. 1, А) в нашей эксперимен-

тальной модели является следствием уменьшения чувствительности постсинаптической мембраны к холиномиметику (рис. 1, Б), обусловленной увеличением неквантовой секреции Ах в зоне концевой пластинки.

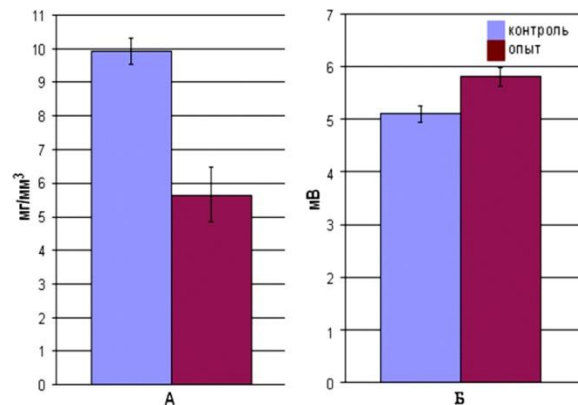


Рис. 1. Функциональные характеристики изолированной m. EDL intactных (контроль) и сенсibilизированных (опыт) мышей: А – сила сокращения (Poc*), вызванного Кх ($7 \times 10^{-4} M$); Б – величина Н-эффекта

Один из путей дальнейшего изучения механизмов функциональной вариабельности скелетных мышц при аллергической перестройке организма предполагает поиск эндогенных модуляторов синаптической передачи, определяющих изменение состояния сократительного аппарата СМ при БС.

ВЫВОДЫ

1. Белковая сенсibilизация вызывает снижение силы сокращения изолированной «быстрой» мышцы мыши (m. EDL) на карбахоллин.
2. Белковая сенсibilизация у «быстрой» мышцы мыши (m. EDL) вызывает увеличение неквантовой секреции ацетилхолина в зоне концевой пластинки.

3. Снижение силы сокращения изолированной m. EDL мышцы на карбахоллин при белковой сенсibilизации является следствием снижения чувствительности мышечной мембраны к холиномиметику, обусловленной увеличением неквантовой секреции ацетилхолина в зоне концевой пластинки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белковые спектры и фосфолипидный состав мембран, обогащенных холинорецепторами из скелетных мышц крыс в условиях сенсibilизации / А. Д. Адо [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1984. № 7. С. 84-86.
2. Ахметзянов Р. Х., Филиппов Е. Б. Измерение силовых характеристик мышечных волокон с помощью фотоэлектрического преобразователя // Физиол. журн. СССР. 1986. Т. 72, № 3. С. 387-390.
3. Гушин И. С. Анафилаксия гладкой и сердечной мускулатуры. М.: Медицина, 1973. 175 с.
4. Экспериментальная модель для разработки и оценки способов контроля немедленной аллергии / И. С. Гушин [и др.] // Патол. физиология и эксперим. терапия. 1986. № 4. С. 18-23.
5. Девятаев А. М., Валиуллин В. В. Избирательное влияние сенсibilизации на фенотип быстрой и медленной мышцы морской свинки // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1994. № 2. С. 191-193.
6. Теплов А. Ю. Влияние белковой сенсibilизации на сократительные свойства «быстрых» и «медленных» мышц мыши in vitro // Нижегород. мед. журн. 2006. № 3. С. 21-24.
7. ATP but not adenosine inhibits nonquantal acetylcholine release at the mouse neuromuscular junction / A. V. Galkin, R. A. Giniatullin, M. R. Mukhtarov, I. Svandova // Eur. J. Neurosci. 2001. Vol. 13, No 11. P. 2047-2053.
8. Fahim M. A., Holley J. A., Robbins N. Topographic comparison of neuromuscular junctions in mouse slow and fast twitch muscles // Neuroscience. 1984. Vol. 13, No 1. P. 227-235.
9. Florendo J. A., Reger J. F., Law P. K. Electrophysiologic differences between mouse extensor digitorum longus and soleus // Exp. Neurol. 1983. Vol. 82, No 2. P. 404-412.

Рукопись поступила 16.06.09.

Сведения об авторах:

1. Фархутдинов Альберт Мансурович – аспирант кафедры патофизиологии КГМУ, e-mail: am_farkhutdinov@mail.ru;
2. Гришин Сергей Николаевич – доцент кафедры нормальной физиологии КГМУ, к.б.н., e-mail: sngrishin@mail.ru;
3. Теплов Александр Юрьевич – доцент кафедры патофизиологии КГМУ, к.б.н., e-mail: alikteplov@mail.ru.