

РАЗЛИЧИЯ В МЕХАНИЗМАХ ПЛАСТИЧНОСТИ ПРИ БЕЛКОВОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ У «БЫСТРЫХ» И «МЕДЛЕННЫХ» ДВИГАТЕЛЬНЫХ МЫШЦ МЫШИ

Фархутдинов А.М., Митрофанов М.С., Теплов А.Ю.

ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Россия (420012, Казань, Бутлерова, 49), e-mail: Alikteplov@mail.ru

Проведено комплексное исследование механизмов, обеспечивающих пластичность «быстрых» и «медленных» двигательных мышц мыши в условиях белковой сенсibilизации (БС). Показано, что в динамике сократительной функции изученных скелетных мышц (СМ) при БС обнаружены существенные различия. Причем в механизмах изменения силы сокращения в этих условиях существенная роль отводится как холиноопосредованным процессам возбуждения постсинаптической мембраны, так и изменениям последующих этапов системы электромеханического сопряжения (ЭМС). В частности, показано участие калийзависимых процессов сокращения. Кроме того, показано, что характер и степень наблюдаемых изменений силы сокращения изучаемых мышц *in vitro* в условиях БС находятся в прямой зависимости от состояния систем про- и антиоксидантного равновесия. Предполагается, что вышеперечисленные изменения в скелетных мышцах являются отражением процессов их адаптации к условиям аллергической перестройки и носят для «быстрых» и «медленных» мышц разнонаправленный характер. Изучение механизмов пластичности различных скелетных мышц к условиям аллергической перестройки позволит предположить новые варианты коррекции их функции, а также наметить возможную стратегию медикаментозного воздействия на конкретные поперечнополосатые мышцы с учетом их волоконного состава.

Ключевые слова: скелетная мышца, сократительные свойства, белковая сенсibilизация

DIFFERENCES IN PLASTICITY AT A PROTEIN SENSITIZATION «FAST» AND «SLOW» MOTOR MOUSE MUSCLE

Farkhutdinov A.M., Mitrofanov M.S., Teplov A.Y.

Kazan state Medical University. Kazan. Russia. (420012, Kazan, Butlerov str., 49), e-mail: Alikteplov@mail.ru

A comprehensive study of mechanisms to ensure the plasticity of «fast» and «slow» motor muscles in a mouse protein sensitization (PS). It is shown that the contractile function of the dynamics of the investigated skeletal muscle (SM) at the PS found significant differences. Moreover, changes in the mechanisms of power reduction under these conditions, a significant role to play as the holinomediated processes of excitation of the postsynaptic membrane, and changes in subsequent phases of the electromechanical coupling (EMC). In particular, we show the participation of potassium dependent processes reductions. In addition, it is shown that the nature and extent of the observed changes in the force of contraction of muscles studied *in vitro* in the conditions of the PS are directly dependent on the state of systems pro- and antioksidantnogo balance. It is assumed that the above changes in skeletal muscle are a reflection of the processes of their adaptation to the conditions of restructuring and are allergic to «fast» and «slow» muscle multidirectional nature. Investigation of the mechanisms of skeletal muscle plasticity various allergic conditions to allow adjustment to assume their new variants correction function, as well as identify possible strategy specific pharmacological effects on striated muscles with regard to their fiber composition.

Keywords: skeletal muscle, contractile properties, protein sensitization

Изучение пластичности поперечнополосатых мышц при аллергической перестройке организма выявило в ее механизмах у разных мышц существенные различия. Ранее на «быстрых» и «медленных» двигательных мышцах мыши в условиях белковой сенсibilизации (БС) нами было изучено участие АТФ-зависимых механизмов возбуждения постсинаптической мембраны. Показано, что влияние экзогенной АТФ на динамику силы карбахолинового сокращения *in vitro* интактных и сенсibilизированных мышцей способно

изменять работу этих механизмов лишь у «медленной» мышцы [4, 6]. Причиной изменения сократительной функции «быстрой» мышцы при БС, очевидно, являются иные, не связанные с АТФ механизмы [4]. Было высказано предположение, что пластичность скелетных мышц (СМ) не ограничивается участием в ней синапса, и адаптация мышечной системы при аллергии осуществляется на иных этапах электромеханического сопряжения (ЭМС). В качестве последних мы предположили калийзависимые процессы сокращения, которые в свою очередь находятся в зависимости от состояния гомеостаза миоцитов. В патогенезе аллергических заболеваний важную роль играет оксидативный стресс, одним из ключевых маркеров которого является малоновый диальдегид (МДА) [8].

Цель

Изучить механизмы пластичности различных поперечнополосатых мышц мыши («медленной» – *m.soleus* и «быстрой» – *m.EDL*) в условиях белковой сенсibilизации (БС): 1) изменение соотношений максимальных сил сокращения на карбахолин и хлористый калий и 2) изменение малонового диальдегида в ткани этих мышц.

Материалы и методы

Эксперименты проводились на мышах, которые сенсibilизировались яичным альбумином [1]. В эксперимент животные забирались на пике сенсibilизации. Механомиографические исследования осуществлялись на препаратах изолированных мышц (*m.soleus* и *m.EDL*) в изометрических условиях. Сокращение регистрировалось датчиком силы. Сократительная функция анализировалась по силе сокращения *in vitro* на КХ и КСI в максимальных концентрациях.

Малоновый диальдегид (МДА) определялся в гомогенатах мышц (*m.soleus* и *m.EDL*) контрольных и сенсibilизированных мышей по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) при высокой температуре в кислой среде [2].

Результаты

Показано, что для *m.soleus* соотношение силы сократительных ответов на максимальные концентрации агониста ($2 \times 10^{-3} \text{M}$) и КСI (150 ммоль/л) ($P_{\text{КХmax}}/P_{\text{КСImax}}$) в контроле составляло 50,1% при БС 32,3%), т.е. показатель $P_{\text{КХmax}}/P_{\text{КСImax}}$ снизился до 64,5% от контроля.

Соотношение силы сократительных ответов *m.EDL* на максимальные концентрации агониста ($4 \times 10^{-3} \text{M}$) и КСI (250 ммоль/л) ($P_{\text{КХmax}}/P_{\text{КСImax}}$) в контроле составляло 75,9%, при БС — 36,5%, т.е. соотношение $P_{\text{КХmax}}/P_{\text{КСImax}}$ в условиях БС снизилось до 48,1% от контроля.

В ткани *m.soleus* уровень МДА снизился с $237,36 \pm 73,67$ мкМ/кг до $119,46 \pm 24,65$ мкМ/кг ($p < 0,05$), в *m.EDL* значение МДА при БС не менялось: $111,02 \pm 25,61$ мкМ/кг в контроле и $127,99 \pm 8,93$ мкМ/кг при БС ($p > 0,05$).

Обсуждение

Результаты экспериментов показывают, что двигательная мускулатура в период аллергической перестройки организма изменяет свою сократительную функцию. Причем характер этих изменений для «быстрых» и «медленных» мышц имеет существенные отличия. Ранее было показано, что в условиях сенсibilизации у «быстрой» мышцы сила сокращения на карбахолин снижается, а у «медленной» увеличивает [4, 6]. В основе динамики силы «медленной» мышцы лежат АТФ-зависимые механизмы [4]. Следовательно, у «медленных» фазных мышц устойчивость к внешним нагрузкам, обеспечивающая работоспособность при продолжительной физической деятельности в условиях экспериментальной аллергии, определяется динамикой чувствительности к ацетилхолину. Гипотетическое участие АТФ-зависимых механизмов в регуляции пластичности скелетных мышц подтверждается показанной нами ранее способностью экзогенной АТФ регулировать сокращение изолированной СМ на холиномиметик через протеинкиназу С [5].

В настоящей работе показано, что в «медленной» мышце, в отличие от «быстрой», в условиях БС изменяется МДА. Корреляция изменения уровня альдегида с активностью АТФ-синтазы [8], показанная на сердечной и скелетных поперечнополосатых мышцах мыши, характеризует изменение баланса систем про- и антиоксидантного равновесия, чем определяются функциональные изменения в СМ при БС. Следовательно, уровень МДА характеризует состояние ряда мембранных и митохондриальных белков и как маркер окислительного стресса опосредованно определяет динамику механизмов ЭМС в двигательных мышцах при аллергической перестройке.

Изменения, возникающие в СМ при сенсibilизации, гипотетически, могут затрагивать различные этапы ЭМС — как поверхностную мембрану мышечных клеток, включая постсинаптическую мембрану, так и систему работы сократительных белков. Представленные в статье результаты позволяют отделять в пластичности СМ при БС АТФ-зависимые процессы от иных.

Можно предположить следующую степень участия АТФ в механизмах пластичности СМ на различных этапах генерации иммунного ответа. В литературе показано, что АТФ увеличивает продукцию интерлейкина-1 (ИЛ-1), чем способствует усилению специфического звена иммунитета [7]. Помогая образованию активной каспазы-1, находящаяся во внеклеточном пространстве АТФ обеспечивает секрецию биологически активных форм ИЛ-1. Гиперэкспрессия пуриновых рецепторов (P2X7) приводит к секреции интерлейкина-1 β . Однако в ходе генерации аллергической реакции в тканях, окружающих мышцу, появляется внеклеточная, эндогенная АТФ. Аденозинтрифосфат, который выделяется макрофагами и дендритными клетками при стимуляции выработки ими ИЛ-1,

является одним из факторов, обеспечивающих развитие аллергической реакции [7]. Одновременно АТФ регулирует интенсивность некантовой секреции ацетилхолина, т.е. выступает в роли кофактора синаптической передачи.

Обнаруженная совокупность изменений физиологических показателей свидетельствует, что они затрагивают различные этапы сокращения мышцы. Динамика силы сокращения, характеризующая холиноопосредованные процессы возбуждения мышечных волокон (МВ), носит для «быстрых» и «медленных» мышц разнонаправленный характер.

Однако МДА является при оксидативном стрессе одним из ключевых маркеров перекисного окисления липидов и характеризует состояние внутриклеточной среды миоцитов, демонстрируя уровень свободных радикалов. Определяясь балансом про- и антиоксидантных систем, он является одним из показателей, который обеспечивает работу механизмов ЭМС в мышечных волокнах [8]. В наших экспериментах уровень альдегида в ткани *m.soleus* снижался, у *m.EDL* его изменение не носило достоверного характера.

Сопоставление динамики силы сокращения с изменением уровня МДА показало, что у «медленной» мышцы увеличение силы коррелирует со снижением альдегида. Очевидно, что это является проявлением работы механизмов компенсации и выражается как увеличением чувствительности мембраны МВ к агонисту, так и изменениями в системе последующих этапов ЭМС. У «быстрой» мышцы снижение силы не связано с уровнем МДА. Динамика альдегида при БС в «медленной» мышце может опосредованно являться причиной изменения как на мембране, так и в цитоплазме ее МВ.

В противоположность «медленной», «быстрая» мышца обладает бóльшей устойчивостью динамики сократительных свойств при БС. Являясь удобным «тестом» для изучения процессов ЭМС, сокращение изолированной СМ на повышение концентрации ионов K^+ [3] многократно повышает свою информативность при сравнении с карбахолиновым сокращением. Отношение максимальной силы, которую способна развивать мышца при сокращении на КХ к максимальной силе, развиваемой мышцей при сокращении на КС1 (P_{KXmax}/P_{KClmax}), позволяет количественно отделять роль холиноопосредованных процессов возбуждения мембраны МВ от последующих этапов в механизмах ЭМС. В наших исследованиях динамика этого показателя при БС – угнетение, более выраженное для «быстрой» мышцы (до 48,1% от исходной), чем для «медленной» (до 64,5%), свидетельствует, что механизмы пластичности у первой в большей степени определяются внутриклеточными механизмами сокращения миоцита.

Выводы

1. Пластичность скелетных мышц в условиях БС определяется динамикой комплекса механизмов ЭМС, локализованных как на холиновозбудимой постсинаптической мембране,

так и в цитоплазме МВ.

2. Пластичность «медленной» мышцы при БС в значительной степени определяется АТФ-зависимыми механизмами. Механизмы пластичности «быстрой» мышцы в условиях БС опосредуются динамикой калийзависимых процессов сокращения.

Список литературы

1. Гуцин И.С. Экспериментальная модель для разработки и оценки способов контроля немедленной аллергии / Гуцин И.С., Зебрева А.И., Богущ Н.Л. и др. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия 1986; 4: 18-23.
2. Методы оценки оксидативного статуса: учебно-методическое пособие для вузов / Рахманова Т.И., Матасова Л.В., Семенихина А.В., Сафонова О.А., Макеева А.В., Попова Т.Н. — Воронеж: Изд-во ВГУ, 2009. — 64 с.
3. Митрофанов М.С., Фархутдинов А.М., Теплов А.Ю. Пластичность «быстрых» и «медленных» скелетных мышц мыши в условиях белковой сенсibilизации. Сокращение *in vitro* на холиномиметик и КСl //Фундаментальные исследования. — 2014. — № 12. Ч. 10. — С. 2150–2153.
4. Теплов А.Ю. Пластичность мышечной системы в условиях белковой сенсibilизации. Участие холинергических и пуринергических механизмов / Теплов А.Ю., Фархутдинов А.М., Торшин В.И. Теплов О.В., Миннебаев М.М. // Вестник новых медицинских технологий. 2014. — Т. 21. — № 1. — С. 6–12.
5. Теплов А.Ю. Роль протеинкиназы-С в механизмах влияния АТФ на сократительную функцию изолированной полоски диафрагмы мыши / Теплов А.Ю., Гришин С.Н., Зиганшин А.У., Зефирова А.Л. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2006. — Т. 141. — № 4. — С. 389–392.
6. Teplov A. Ovalbumin-induced sensitization affects non-quantal acetylcholine release from motor nerve terminals and alters contractility of skeletal muscles in mice / Teplov A., Grishin S, Mukhamedyarov M, et al. // *Exp Physiol*. 2009 Feb;94(2):264-268.
7. Tsai TL. Role of ATP in the ROS-mediated laryngeal airway hyperreactivity induced by laryngeal acid-pepsin insult in anesthetized rats / Tsai TL, Chang SY, Ho CY, Kou YR. // *J Appl Physiol*. 2009 May; 106(5): 1584-92.
8. Yarian CS, Rebrin I, Sohal RS. Aconitase and ATP synthase are targets of malondialdehyde modification and undergo an age-related decrease in activity in mouse heart mitochondria.// *Biochem Biophys Res Commun*. 2005 Apr 29; 330(1): 151-6.

Рецензенты:

Сайфутдинов М.С., д.б.н., в.н.с. лаборатории патологии осевого скелета и нейрохирургии
ФГБУ «РНЦ ВТО им. Академика Г.А. Елизарова» Минздрава России, г. Курган;

Долганова Т.И., д.м.н., в.н.с. лаборатории коррекции, деформации и удаления конечностей
ФГБУ «РНЦ ВТО им. Академика Г.А. Елизарова» Минздрава России, г. Курган.