

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ИЗМЕНЕНИЕ М-ХОЛИНОРЕАКТИВНОСТИ МИОКАРДА ЛЯГУШКИ  
ПОД ВЛИЯНИЕМ СЫВОРОТКИ ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Циркин В.И., Трухин А.Н., Сизова Е.Н., Дворянский С.А.

Кафедра нормальной физиологии и кафедра акушерства и гинекологии Кировской государственной медицинской академии; кафедра анатомии, физиологии и валеологии Вятского государственного гуманитарного университета; кафедра медико-биологических дисциплин Вятского социально-экономического института.

## Резюме

В опытах с изолированными сердцами 31 лягушки (*R. ridibunda*) ацетилхолин ( $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  г/мл) с дозо-зависимым эффектом уменьшал амплитуду сокращений, вызванных электростимуляцией (30 сек, 1Гц, 5 мсек, 5-10В), не изменяя при этом время достижения максимальной амплитуды, т.е. оказывал отрицательный инотропный эффект и снижал хроно-инотропные взаимоотношения. Сыворотка пуповинной крови в разведении 1:100 (СПК-1:100) не влияла на амплитуду сокращений и хроноинотропные отношения, но за счет наличия в ней эндогенного блокатора М-холинорецепторов (ЭБМХР) снижала М-холинореактивность миокарда, т.е. проявляла М-холиноблокирующую активность. В частности, она сдвигала кривую «доза — эффект» вправо и вниз, повышая при этом  $K_D$  для ацетилхолина более, чем в 3 раза, т.е., уменьшала сродство ацетилхолина к М-ХР и снижала эффективность М-холинергического воздействия на сердце. Она также снижала способность ацетилхолина ( $10^{-7}$  и  $10^{-6}$  г/мл) уменьшать хроно-инотропные отношения. В отдельных случаях СПК-1:100 за счет наличия эндогенного сенсibilизатора М-холинорецепторов (ЭСМХР) повышала отрицательный инотропный эффект ацетилхолина. Обсуждается вопрос о природе ЭБМХР и ЭСМХР и их возможном участии в регуляции деятельности сердца в условиях нормы и патологии.

**Ключевые слова:** миокард лягушки, ацетилхолин, сыворотка пуповинной крови, динамика М-холинореактивности.

В 90-е годы было установлено, что эпителий дыхательных путей ряда животных продуцирует фактор, снижающий способность ацетилхолина активировать миоциты трахеи и бронхов; такой фактор, выделенный из слизистой дыхательных путей телят, имел олигопептидную природу [11]. В 70-е годы в опытах с изолированным сердцем лягушки было установлено, что сыворотка крови лягушки (в разведении 1:5), крысы (1:30) и кролика (1:30) препятствует проявлению отрицательного инотропного и хронотропного эффектов ацетилхолина, т.е. проявляет М-холиноблокирующее действие. В последующем было показано [9, 14], что М-холиноблокатором, вероятнее всего, является лизофосфатидилхолин (ЛФХ), так как в экспериментах с изолированным сердцем лягушки это вещество в концентрациях 1-25 мкМ оказывало такой же М-холиноблокирующий эффект, как и сыворотка крови. На продольных полосках рога матки небеременных крыс в нашей лаборатории также обнаружено, что 50-, 100- и 500-кратные разведения сыворотки венозной крови мужчин и женщин [6], сыворотки пуповинной крови новорожденных [13], 10- и 50-кратные разведения ликвора мужчин и женщин способны блокировать стимулирующее влияние ацетилхолина, т.е. проявляют М-холиноблокирующую активность. Кроме того, 100-кратные разведения сыворотки пуповинной крови

препятствовали стимулирующему влиянию ацетилхолина в опытах с продольными полосками трахеи коровы и коронарной артерии свиньи [9]. Все эти факты объясняются наличием в крови эндогенного блокатора М-холинорецепторов (ЭБМХР), основным компонентом которого, возможно, является ЛФХ. Вопрос о влиянии сыворотки крови человека на чувствительность М-холинорецепторов сердечной мышцы до настоящего времени не изучался, хотя это представляет большой интерес, так как показано, что при гипертонической болезни и сердечной недостаточности снижена эффективность холинергических воздействий на сердце [4]. Перспективность изучения вопроса о действии ЭБМХР на миокард демонстрируют результаты работы [6], свидетельствующие о том, что при инфаркте миокарда М-холиноблокирующая активность 100-, 500- и 1000-кратных разведений сыворотки крови увеличена (возможно, вследствие интенсивного образования ЛФХ при перекисном окислении), а на этапе реабилитации, при использовании физических нагрузок параллельно с улучшением состояния больных, эта активность снижается. Таким образом, это исследование впервые показало, что содержание ЭБМХР в крови у больных может существенно меняться, и, тем самым, может меняться эффективность М-холинергических влияний на сердце. Все сказанное послужило основа-

нием для постановки цели данной работы: изучить влияние 100-кратного разведения сыворотки пуповинной крови (СПК-1:100) новорожденных на чувствительность М-холинорецепторов изолированного сердца лягушки при ее оценке с помощью трех концентраций ацетилхолина ( $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  и  $10^{-5}$  г/мл).

#### Материал и методы

Влияние СПК-1:100 на чувствительность М-холинорецепторов миокарда на ацетилхолин в концентрации  $10^{-7}$  (серия 1),  $10^{-6}$  (серия 2) и  $10^{-5}$  г/мл (серия 3), изучали в опытах на изолированных сердцах 31-й озерной лягушки (*Rana ridibunda*). Сыворотку получали путем 15-минутного центрифугирования пуповинной крови (при 2000 об/мин) и последующего ее разведения раствором Рингера (в мМ: NaCl -114,4; KCl-1,6; CaCl<sub>2</sub>-1,80; NaHCO<sub>3</sub>-2,4; pH-7,4). Регистрацию сократительной активности изолированного сердца, а также оценку его М-холинореактивности проводили при 16-22°C по методике [12], адаптированной для работы с миокардом холоднокровных, на «Миоцитографе», состоящем из механотрона 6MX1С, самопишущего прибора Н-3020 и шприцевого дозатора, с помощью которого раствором Рингера перфузировали рабочую камеру объемом в 1 мл со скоростью 0,7мл/мин. Во всех сериях опыты проводили по следующей схеме (табл.): раствор Рингера > ацетилхолин (в одной из исследуемых концентраций) > раствор Рингера > сыворотка (1:100) > сыворотка + ацетилхолин > раствор Рингера > ацетилхолин. Продолжительность каждого из 7 этапов эксперимента составляла 10 минут. Сокращения сердца, автоматия которого была подавлена наложением лигатуры в области венозного синуса, вызывали 30-секундными пачками импульсов от электростимулятора ЭСЛ-1 (1Гц, 5мс, 5-10В). Их на каждом из семи этапов эксперимента наносили дважды – в конце 1-го и в конце 2-го 5-минутных отрезков (наличие 1-й и 2-й электростимуляции позволяло оценить динамику сократимости на каждом этапе эксперимента). По механограммам для 1-й и 2-й электростимуляций рассчитывали абсолютные (в мН) и относительные (в %) значения амплитуды минимального и максимального сокращения, а также время достижения максимальной амплитуды (сек, %). Достоверность различий оценивали по критериям Фишера-Стьюдента и Уилкоксона, считая их достоверными при  $p < 0,05$ .

#### Результаты

Показано (табл.), что во всех трех сериях на каждом из 7 этапов эксперимента в ответ на 30-секундную электростимуляцию возникали сокращения. При этом изменение амплитуды сокращений соответствовало лестнице Боудича: амплитуда первого из них всегда была минимальной, амплитуда последующих сокращений постепенно возрастала, достигая за 8-15 сек макси-

мальных значений. Так, на 1-м этапе экспериментов в серии 1 минимальная амплитуда сокращений ( $A_{\min}$ ) при 1-й и 2-й электростимуляциях составила, соответственно,  $4,94 \pm 1,01$  мН и  $4,77 \pm 1,11$  мН, максимальная амплитуда сокращений ( $A_{\max}$ ) – соответственно,  $12,70 \pm 2,26$  мН и  $13,14 \pm 2,33$  мН, а время достижения  $A_{\max}$  – соответственно,  $13,8 \pm 1,7$  сек и  $11,1 \pm 1,8$  сек; в серии 2  $A_{\min}$  при 1-й и 2-й электростимуляциях составила, соответственно,  $5,49 \pm 0,44$  мН и  $5,24 \pm 0,69$  мН,  $A_{\max}$  –  $13,82 \pm 1,45$  мН и  $14,16 \pm 1,45$  мН, а время достижения  $A_{\max}$  –  $15,1 \pm 1,6$  сек и  $11,7 \pm 1,51$  сек; в серии 3  $A_{\min}$  при 1-й и 2-й электростимуляциях составила, соответственно,  $2,35 \pm 0,16$  мН и  $3,82 \pm 1,20$  мН,  $A_{\max}$  –  $10,14 \pm 1,28$  мН и  $12,05 \pm 1,53$  мН, а время достижения  $A_{\max}$  –  $13,1 \pm 2,3$  сек и  $8,6 \pm 1,6$  сек (как видно из представленных данных, в серии 3 исходная сократимость миокарда оказалась более низкой, чем в сериях 1 и 2). При этом, судя по  $A_{\min}$ ,  $A_{\max}$  и времени достижения  $A_{\max}$ , различия между 1-й и 2-й электростимуляциями, наносимыми на 1-м этапе эксперимента (как и на других этапах), в большинстве случаев носили недостоверный характер, что свидетельствует о стабильности сократимости миокарда на 10-минутном отрезке эксперимента.

Как показали результаты 2-х и 3-х этапов экспериментов (табл.) ацетилхолин ( $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$  и  $1 \times 10^{-5}$  г/мл) при 1-м тестировании, т.е. до воздействия сыворотки крови, дозо-зависимо и обратимо снижал  $A_{\min}$  (соответственно, до 65,6-98,4%, 52,7-55,4% и 40,1-45,2% от исходного уровня) и  $A_{\max}$  (до 90,1-90,5%, 67,7-71,2% и 47,0-51,8%), т.е. проявлял отрицательный инотропный эффект, не изменяя при этом время достижения  $A_{\max}$ . Косвенно это указывает на то, что ацетилхолин уменьшал хроно-инотропные взаимоотношения.

Как показали результаты 4-го этапа экспериментов (табл., рис. 1), СПК-1:100 в серии 1 и 2 не влияла достоверно на  $A_{\min}$  и  $A_{\max}$ , а в серии 3, т.е. при использовании ацетилхолина в концентрации  $10^{-5}$  г/мл повышала  $A_{\min}$  (до 118,6% – 144,4% от фонового уровня) и  $A_{\max}$  (до 144,2% – 137,6%), что, скорее всего, является отражением восстановления сократимости после удаления ацетилхолина. Все это позволяет утверждать, что сама по себе сыворотка крови не влияет на сократимость миокарда.

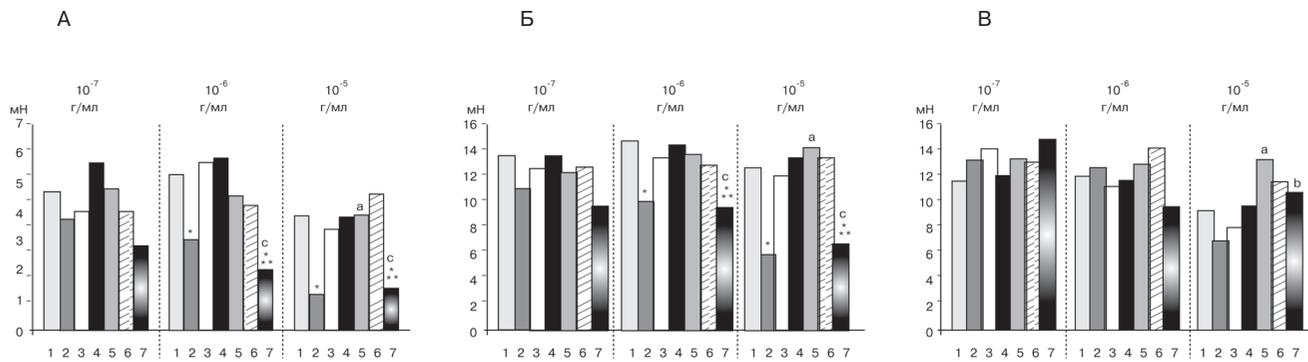
В то же время, СПК-1:100 достоверно и обратимо снижала М-холинореактивность миокарда и снижала эффективность М-холинергического воздействия, т.е. проявляла М-холиноблокирующую активность, что особенно выражено при использовании ацетилхолина в высокой концентрации ( $10^{-5}$  г/мл). В серии 1 эта активность отмечена в 45,5-72,7% опытов, в серии 2 – в 80,0-90,0% опытов, а в серии 3 – в 80,0-100,0% опытов. Так, ацетилхолин ( $10^{-5}$  г/мл) при 1-м тестировании снижал  $A_{\min}$  и  $A_{\max}$ , соответственно, в 80,0-100,0% и в 100% опытов, при 2-м тестировании – лишь в 10-50% и

Таблица

**Показатели вызванной сократительной активности изолированного сердца лягушки при воздействии ацетилхолина и 100-кратно разведенной сыворотки пуповинной крови (в процентах)**

Показатели сократительной активности	№ Электро-стимуляции	Этапы эксперимента						
		1 Раствор Рингера	2 Ацетилхолин	3 Раствор Рингера	4 Сыворотка	5 Сыворотка + ацетилхолин	6 Раствор Рингера	7 Ацетилхолин
Серия 1. Ацетилхолин 10-7 г/мл (n=11)								
Amin	1	100	65,6±7,4 *	81,9±12,6	119,9±17,3	96,1±14,0	105,7±16,0	75,6±6,7***
Amax	1	100	90,1±8,2	93,3±14,0	102,5±6,8	99,9±10,5	118,5±15,4	79,2±5,3 ***
ВД Amax	1	100	106,2±19,1	108,6±18,1	110,9±10,2	103,0±5,0	126,5±18,9	96,1±8,1
Amin	2	100	98,4±14,8	125,3±18,8	132,0±17,8	87,7±13,3	106,4±15,8	84,3±13,0
Amax	2	100	90,5±10,0	99,1±8,4	113,3±8,0	86,3±6,3 **&	111,2±13,7	77,6±5,6 ***
ВД Amax	2	100	120,7±15,4	106,2±16,3	97,2±15,8	115,7±11,3	118,0±31,5	121,9±23,3
Серия 2. Ацетилхолин 10-6 г/мл (n=10)								
Amin	1	100	52,7±10,9 *	76,3±7,5 *	115,9±26,1	129,8±32,1 a	114,7±18,9	64,3±15,4***
Amax	1	100	71,2±5,8 *	86,8±4,2 *	111,1±6,0	90,5±7,7&a	111,4±8,5	69,6±4,1 ***c
ВД Amax	1	100	91,2±10,9	88,4±8,9	96,1±7,7	130,7±34,0	117,1±23,9	94,1±11,8
Amin	2	100	55,4±6,8 *	118,5±22,2	102,5±12,1	94,7±15,1 a	80,2±10,8	55,5±8,3*** c
Amax	2	100	67,7±6,9 *	92,6±5,2	104,4±3,4	96,4±2,7 a	96,3±3,2	73,7±5,1 ***c
ВД Amax	2	100	105,5±4,5	98,7±17,6	103,8±4,8	91,7±7,5	119,6±30,7	93,4±22,2
Серия 3. Ацетилхолин 10-5 г/мл (n=10)								
Amin	1	100	45,2±3,0 *	93,2±14,8	118,6±17,3	130,0±10,2**a	133,9±15,7**	59,9±10,0 ***c
Amax	1	100	51,8±5,7 *	99,5±11,9	144,2±26,4**	105,8±1,9**&a	129,6±11,5**	53,3±4,2 ***c
ВД Amax	1	100	87,9±12,8	118,9±21,2	106,7±10,7	147,9±32,0a	124,5±18,6	93,1±9,9
Amin	2	100	40,1±7,2 *	109,7±21,6	144,4±19,6 **	115,3±15,7 a	128,0±17,1	43,6±12,6 ***c
Amax	2	100	47,0±4,3 *	94,1±8,8	137,6±25,8**	106,2±3,3 a	120,3±9,9	48,8±4,4 ***c
ВД Amax	2	100	94,3±14,5	98,1±11,5	120,3±8,1**	157,5±34,0	163,2±28,8**	105,0±17,9
Д по Amin	1	Z	p <sub>1-3</sub>	Z	Z	Z	Z	Z
Д по Amax	1	Z	p <sub>1-3</sub> p <sub>2-3</sub>	Z	Z	Z	Z	p <sub>1-3</sub> p
Д по ВДАmax	1	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
Д по Amin	2	Z	p <sub>1-2</sub> p <sub>2-3</sub>	Z	Z	Z	p <sub>2-3</sub>	p <sub>1-2</sub> p <sub>1-3</sub>
Д по Amax	2	Z	p <sub>1-3</sub> p <sub>2-3</sub>	Z	Z	p <sub>1-3</sub> p <sub>2-3</sub>	p <sub>2-3</sub>	p <sub>1-3</sub> p <sub>2-3</sub>
Д по ВДАmax	2	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z

**Примечания:** Показатели этапов 2 и 3 выражены в % к показателям этапа 1; этапов 4, 5 и 6 - в % к этапу 3, а этапа 7 - в % к этапу 6. Символы указывают на достоверные различия (p<0,05) между 1 и 2, 3 этапами (\*), 3 и 4,5 (\*\*), 6 и 7 (\*\*\*), 4 и 5 (&); 2 и 5 (a), 2 и 7 (b), 5 и 7 (c). Д - наличие достоверных различий (p<0,05) между сериями 1, 2 и 3; Z - достоверные различия отсутствуют; Amin - минимальная и Amax - максимальная амплитуды сокращений; ВД Amax - время достижения максимальной амплитуды.



**Рис. 1.** Изменение минимальной (панель А) и максимальной (панель Б) амплитуды сокращений и времени достижения максимальной амплитуды (панель В) изолированного сердца лягушки в экспериментах по изучению М-холиноблокирующей активности сыворотки (1:100) пуповинной крови при использовании ацетилхолина в трех концентрациях (10<sup>-7</sup>, 10<sup>-6</sup> и 10<sup>-5</sup> г/мл) Этапы эксперимента: 1 - раствор Рингера, 2 - ацетилхолин, 3 - раствор Рингера, 4 - сыворотка крови, 5 - сыворотка крови + ацетилхолин, 6 - раствор Рингера, 7 - ацетилхолин. Символы указывают на достоверные различия (p<0,05) 2-го и 3-го этапов от 1-го (\*), 4-го и 5-го от 3-го (\*\*), 7-го этапа от 6-го (\*\*\*), 5-го от 4-го (&), 5-го от 2-го (a), 7-го от 2-го (b) и 7-го от 5-го (c).

в 0,0-10% опытов, а при 3-м тестировании – в 70,0-80,0% и в 100,0%.

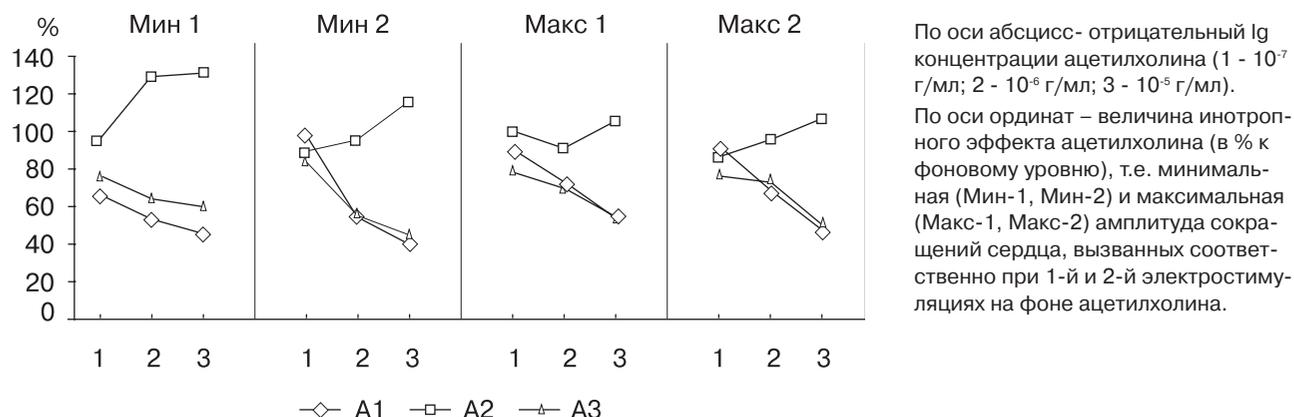
Количественный анализ результатов исследования (табл.) также демонстрирует способность СПК-1:100 проявлять М-холиноблокирующую активность, особенно при использовании ацетилхолина в концентрациях  $10^{-6}$  и  $10^{-5}$  г/мл. Так, в серии 1 показано, что при действии ацетилхолина до, на фоне и после удаления СПК-1:100 (т.е., соответственно, при 1-м, 2-м и 3-м тестированиях)  $A_{\min}$  при 1-й электростимуляции составила, соответственно, 65,6%, 96,1% и 75,6% от фонового уровня ( $p_{1-2-3} > 0,1$ ), а при 2-й электростимуляции – соответственно, 98,4%, 87,7% и 84,3%, ( $p_{1-2-3} > 0,1$ );  $A_{\max}$  при 1-й электростимуляции составила, соответственно, 90,1%, 99,9% и 79,2% ( $p_{1-2-3} > 0,1$ ), а при 2-й электростимуляции – 90,5%, 86,3% и 77,6% ( $p_{1-2-3} > 0,1$ ). В серии 2  $A_{\min}$  при 1-й электростимуляции составила, соответственно, 52,7%, 129,8% и 64,3% ( $p_{2-1} < 0,05$ ), а при 2-й электростимуляции – соответственно, 55,4%, 94,7% и 55,5% ( $p_{2-1,3} < 0,05$ );  $A_{\max}$  при 1-й электростимуляции составила, соответственно, 71,2%, 90,5% и 69,6% ( $p_{2-1,3} < 0,05$ ), а при 2-й электростимуляции – соответственно, 67,7%, 96,4% и 73,7% ( $p_{2-1,3} < 0,05$ ). В серии 3  $A_{\min}$  при 1-й электростимуляции составила, соответственно, 45,2%, 130,0% и 59,9% ( $p_{2-1,3} < 0,05$ ), при 2-й электростимуляции – соответственно, 40,1%, 115,3% и 43,6% ( $p_{2-1,3} < 0,05$ );  $A_{\max}$  при 1-й электростимуляции составила, соответственно, 51,8%, 105,8% и 53,3% ( $p_{2-1,3} < 0,05$ ); а при 2-й электростимуляции – соответственно, 47,0%, 106,2% и 48,8% ( $p_{2-1,3} < 0,05$ ). В целом, все эти изменения отразились на сдвиге кривой «доза-инотропный эффект ацетилхолина» (рис. 2) и на почти трехкратном повышении  $K_d$  для ацетилхолина (с 295,25 нг/мл до значений, превышающих 1000 нг/мл). Это означает, что СПК-1:100 уменьшает сродство М-холинорецепторов к ацетилхолину и выраженность М-холинергического воздействия на миокард. Блокируя отрицательный инотропный эффект ацетилхолина, СПК-1:100 одновременно уменьшала способность ацетилхолина снижать хроно-инотропные отношения, но при условии его использования в низких ( $10^{-7}$  г/мл) или средних ( $10^{-6}$  г/мл) концентрациях; высокие ( $10^{-5}$  г/мл) концентрации ацетилхолина сохраняли способность уменьшать хроно-инотропные отношения даже на фоне СПК-1:100. В целом, все это свидетельствует о том, что сыворотка пуповинной крови содержит ЭБМХР, который способен снижать М-холинореактивность миокарда лягушки.

В отдельных случаях (в серии 1 – в 27,3-45,5%, в серии 2 – в 10,0-20,0%, а в серии 3 – в 20,0% опытов) сыворотка проявляла М-холиносенсибилизирующую активность, т.е. усиливала отрицательный инотропный эффект ацетилхолина. Это указывает на наличие в крови ЭСМХР и его способность повышать М-холинореактивность миокарда лягушки.

### Обсуждение

Таким образом, в опытах с миокардом лягушки впервые установлено, что СПК-1:100 препятствует проявлению отрицательного инотропного эффекта ацетилхолина ( $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  г/мл), а также уменьшает способность ацетилхолина ( $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  г/мл) снижать хроно-инотропные отношения. Все это можно объяснить наличием в крови ЭБМХР. При этом мы не исключаем, что ЭБМХР может также препятствовать проявлению других (хроно-, батмо- и дромотропного) эффектов ацетилхолина. В целом, данные литературы и результаты наших исследований позволяют заключить, что содержащийся в крови человека и животных ЭБМХР, представляет собой универсальный фактор, снижающий М-холинореактивность не только гладких мышц матки, сосудов, трахеи, как это было установлено ранее [6, 9, 13], но и миокарда. Можно предположить, что в условиях целостного организма ЭБМХР снижает эффективность М-холинергических влияний на деятельность всех структур, которые содержат М-холинорецепторы (сердце, гладкие мышцы дыхательных путей, матки, сосуды половых органов, сосуды ротовой полости, миоциты и glanduloциты пищеварительного тракта). Это означает, что эффективность М-холинергических влияний на деятельность различных органов в условиях целостного организма зависит не только от интенсивности парасимпатических воздействий, но и от содержания в крови ЭБМХР.

Природа ЭБМХР до настоящего времени не установлена. С одной стороны, известно, что фосфорилирование М-холинорецепторов с участием различных киназ может препятствовать передаче сигнала «вниз по течению», т.е. от рецепторов к внутриклеточным эффекторам [8]. С другой стороны, имеются сведения о способности ряда веществ снижать М-холинореактивность различных клеток. Это – гуаниновые нуклеотиды N-этилмалеимид, катионы натрия и аммония [8], нейропептид Y [17], олигопептиды слизистой дыхательных путей телят [11], дипептид пролин-глицин [2], а также ЛХФ [7]. По нашему мнению, основным компонентом ЭБМХР является ЛФХ, который, как известно, образуется в результате метаболизма основного компонента фосфолипидов всех клеток организма человека и животных – фосфатидилхолина, который накапливается при окислении липопротеинов низкой плотности [7]. Известно, что содержание ЛФХ возрастает при гиперлипидемии и атеросклерозе [7, 14], инфаркте миокарда [5] и других видах стресса [1], а также при активации перекисного окисления липидов. Недавно было установлено [6], что у больных с острым инфарктом миокарда содержание ЭБМХР в крови увеличено; регулярные физические тренировки, наряду с повышением функциональных возможностей организма уменьшают содержание ЭБМХР, что, вероятно, обусловлено уменьшением уровня ЛФХ. Это наблюде-



**Рис.2.** Зависимость инотропного эффекта ацетилхолина от его концентрации в среде, выявляемая до (A1), на фоне (A2) и после (A3) воздействия на изолированное сердце лягушки 100-кратной разведенной сыворотки пуповинной крови человека.

ние согласуется с данными литературы [3] о том, что систематические физические тренировки, повышают у здоровых людей вариабельность сердечного ритма, т.е. эффективность вагусных влияний на сердце. Все это указывает на причастность ЛФХ к реализации эффектов ЭБМХР, а, с другой стороны, – на важную физиологическую роль ЭБМХР в организме человека и животных. Следует отметить, что в настоящее время уделяется большое внимание ЛФХ, так как спектр его действия весьма широк. Например, в концентрациях 1-10 мкМ и ниже (этому соответствует 50-, 100- и даже 500-кратное разведение сыворотки крови) ЛФХ активирует перекисное окисление липидов [7] уменьшает продукцию NO в эндотелиоцитах [15], блокирует эндотелий-зависимое расслабление артерий [14], оказывает прямую вазоконстрикцию и положительный инотропный и хронотропный эффект, а также вызывает аритмию [7]. Все это указывает на актуальность дальнейшего исследования вопроса о природе ЭБМХР и его участии в процессах регуляции деятельности висцеральных органов, включая сердце.

Недавно в опытах с миометрием крысы было установлено наличие ЭСМХР в пуповинной крови плода и в венозной крови небеременных женщин [10]. Наши эксперименты с СПК-1:100 в определенной степени подтверждают наличие ЭСМХР в крови и доказывают его способность повышать М-холинореактивность миокарда лягушки. Наиболее вероятно, что в крови ЭСМХР находится в связанном состоянии, так как с уменьшением кратности разведения вероятность наблюдения М-холинореактивного эффекта снижается. Закономерно встает вопрос о возможной природе этого фактора. В литературе отмечено, что эстрогены способны повышать чувствительность нейронов мозга и гладких мышц сосудов [8], затебрадин (как специфический блокатор ионного тока, активируемого гиперполяризацией) в присутствии эзерина повышает чувствительность кардиомиоцитов кролика [16], а глицин и дипептид глицин-пролин повышают ее у кардио-

миоцитов лягушки [2]. Имеют ли перечисленные вещества отношение к ЭСМХР должны показать будущие исследования.

В целом, представленные в работе данные указывают на наличие в организме человека и животных эндогенных модуляторов М-холинореактивности прямого действия, в том числе ЭБМХР и ЭСМХР, которые, вероятно, играют важную роль в процессах регуляции деятельности внутренних органов, в том числе – и сердца. Все это указывает на перспективность дальнейшего изучения вопроса о природе, механизме действия и роли этих важных компонентов системы регуляции хемоактивности органов и тканей.

В методическом отношении результаты наших исследований позволяют заключить, что изолированное сердце лягушки можно применять для оценки относительного содержания ЭБМХР и ЭСМХР. При этом наиболее целесообразно ацетилхолин использовать в средних концентрациях, т.е.  $10^{-6}$  г/мл.

### Выводы

1. Сыворотка пуповинной крови (1:100) не влияет на амплитуду сокращений изолированного сердца лягушки и его хроно-инотропные отношения, но препятствует проявлению отрицательного инотропного эффекта ацетилхолина ( $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  и  $10^{-5}$  г/мл), Это говорит о наличии в крови эндогенного блокатора М-холинорецепторов (ЭБМХР).

2. В отдельных случаях сыворотка пуповинной крови повышает отрицательный инотропный эффект ацетилхолина, особенно при использовании его в низких ( $10^{-8}$  г/мл) концентрациях, что объясняется наличием в крови эндогенного сенсibilизатора М-холинорецепторов (ЭСМХР), который находится в связанном состоянии.

3. Предполагается, что эндогенные модуляторы М-холинореактивности (ЭБМХР и ЭСМХР) играют важную роль в регуляции деятельности сердца в условиях нормы и патологии.

## Литература

1. Атаджанов М.А., Баширова Н.С., Усманходжаева А.И. и др. Спектр фосфолипидов в органах- мишенях при стрессе // Пат-физиология и экспер. терапия.- 1995.- №3.- С.46-48.
2. Бабская Н.Е., Ашмарин И.П., Действие дипептидов GLY-PRO, PRO-GLY, глицина и пролина на кардиотропные эффекты ацетилхолина. // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 1998, №8.- С.139-141.
3. Баевский Р.М. Анализ variability сердечного ритма в космической медицине // Физиология человека.- 2002.- Т.28, № 2.- С.70-82.
4. Красникова Т.Л., Габрусенко С.А. бета-адренергические рецепторы сердца в норме и при сердечной недостаточности // Успехи физиологических наук. - 2000.- Т.31, №2.- С.35-50.
5. Мазур Е.С., Зубарева Г.М., Каргаполов А.В. Динамика уровня фосфолипидов крови у больных инфарктом миокарда// Кардиология. - 1996. - №4. - С. 65 - 68.
6. Мальчикова С.В., Сизова Е.Н., Циркин В.И. и др. Содержание в сыворотке крови больных, перенесших острый коронарный инцидент, эндогенных факторов, изменяющих сократительную активность,  $\beta$ -адрено- и М-холинореактивность гладких мышц, и влияние на него физических тренировок // Вятский медицинский вестник.- 2002.- № 3.- С.42-54.
7. Проказова Н.В., Звездина Н.Д., Коротаева А.Л. Влияние люофосфатидилхолина на передачу трансмембранного сигнала внутрь клетки. Обзор //Биохимия. -1998. - Т.63, вып.1. - С.38-46.
8. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., Петров В.И. Рецепторы физиологически активных веществ: Монография. Волгоград, изд-во «Семь ветров».- 1999.- 640с.
9. Сизова Е.Н., Циркин В.И., Дворянский С.А. Изучение роли эндогенных модуляторов хемореактивности в регуляции коронарного кровотока // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.- 2002.- Т.88.- №7.- С.856-864.
10. Сизова Е.Н., Циркин В.И., Трухин А.Н. Эндогенный М-холиносенсибилизатор как компонент системы эндогенных модуляторов холинореактивности, Физиологические проблемы адаптации/ Мат. конф.- Ставрополь, 2003.- С. 162-163.
11. Хавинсон В.Х., Кожемякин А.Л., Федин А.Н. и др. Релаксирующее действие олигопептидов, выделенных из слизистой трахеи и легочной паренхимы, на гладкую мускулатуру трахеи крыс. // Бюлл. эксп. биолог. и мед.- 1992.- Т. 113, № 5.- С.483-486.
12. Циркин В.И., Дворянский С.А., Ноздрачев А.Д. и др. Адреномодулирующие эффекты крови, ликвора, мочи, слюны и околоплодных вод человека. // Доклады РАН.- 1997.- Т. 352, № 1.- С. 124-126.
13. Циркин В.И., Ноздрачев А.Д., Сазанова М.Л. и др. Утероактивные,  $\beta$ -адреномодулирующие и М-холиномодулирующие свойства сыворотки пуповинной крови человека. // Доклады РАН. -2003- Т. 388, № 5. - С. 704-707.
14. Chen L., Liang B., Froese D. et al. Oxidative modification of low density lipoprotein in normal and hyperlipidemic patients: affect of lysophosphatidylcholine composition on vascular relaxation // J. Lipid Res. - 1997. - V.38, №3.- С.546-553.
15. Kikuta K., Sawamura T., Miwa S. et al. High-affinity arginine transport of bovine aortic endothelial cells is impaired by lysophosphatidylcholine // Circ. Res.- 1998.- Vol. 82, №11.- P.1088-1096.
16. Kodama I., Suzuki R., Hohjo H. et al.. The effects of zatebradine (UL-FS 49) on the negative chronotropic effect of acetylcholine on the sinoatrial node // Environ. Med.- 1995.- Vol 37, №1.- P. 69-72.
17. Miura M., Belvisi M., Stretton C. et al. Role of K<sup>+</sup> channels in the modulation of cholinergic neural responses in guinea-pig and human airways // J. Physiol.- 1992.- V.455, №1.- P.1-15.

## Abstract

*In experiments with isolated hearts from 31 frogs (*R. ridibunda*), acetylcholine (10-7, 10-6, 10-5 g/ml) in a dose-dependent manner reduced contraction amplitude during electrostimulation (30 s, 1 Gz, 5 ms, 5-10 W). The time to achieve maximal amplitude did not change, that meant the serum had negative inotropic effect, weakening chrono-inotropic correlations. Serum from umbilical blood in titer 1:100 (SUB-1:100) did not affect contraction amplitude and chrono-inotropic correlations. But, due to endogenous blocker of M-cholinoreceptors (EMCRB), it decreased myocardial M-cholinoreactivity, demonstrating M-cholinoblocking properties. In particular, the serum shifted the dose-effect curve right- and downward, increasing acetylcholine K<sub>d</sub> by more than 3 times. Serum acetylcholine affinity to M-CHR diminished, and M-cholinergic influence on the heart became less effective. The serum decreased acetylcholine potential (10-7 and 10-6 g/ml) to weaken chrono-inotropic correlations. In some cases, SUB-1:100, due to endogenous M-cholinoreceptor stabilizer (EMCRS), increased negative inotropic effect of acetylcholine. The nature of EMCRB and EMCRS, together with their possible normal and pathologic role in regulating the heart function, is discussed.*

**Keywords:** frog miocardium, acetylcholine, serum from umbilical blood, m-cholinoreativity dynamics.

Поступила 20/06-2003