

На правах рукописи

ДЬЯКОВА ЕЛЕНА ЮРЬЕВНА

**СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ГЛАДКИХ МЫШЦ БРОНХОВ ПРИ
ФОРМИРОВАНИИ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ВОЗДУХОНОСНЫХ ПУТЕЙ**

03.00.13 – физиология

03.00.02 - биофизика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

ТОМСК - 2004

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России», г. Томск

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:

доктор медицинских наук,
профессор

Капилевич Леонид Владимирович

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

доктор медицинских наук,
профессор

Барбараш Нина Алексеевна

доктор биологических наук,
профессор

Евдокимов Евгений Васильевич

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ:

НИИ физиологии СО РАМН, г. Новосибирск

Защита состоится " ____ " _____ 2004 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при Сибирском государственном медицинском университете (634050 г. Томск, Московский тракт, 2).

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск, проспект Ленина, 107).

Автореферат разослан " ____ " _____ 2004 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Суханова Г.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования.

Изучение механизмов регуляции электрических и сократительных свойств гладких мышц внутренних органов, выяснение патогенеза заболеваний и разработка способов коррекции функциональных расстройств является актуальной проблемой современной физиологии и медицины [Баскаков М.Б., Медведев М.А., 1987, Капилевич Л.В. и др., 1994]. Особое значение названная проблема имеет для системы дыхания. Значительная часть заболеваний респираторной системы связана с нарушением регуляторных механизмов гладкомышечных клеток стенки воздухоносных путей [Абросимов В.Н., 1990, Sato Y. et al., 1998].

Перспективным путем выяснения этих механизмов является моделирование дисфункции респираторного тракта у экспериментальных животных [Елисеева Е.В., 1997, Tohda Y. et al., 2002]. Экспериментальные модели используются для изучения различных аспектов патогенеза и апробации новых способов лечения. В модельных экспериментах изучались активность тканевых и сывороточных ферментов, гормональный и иммунный статус, морфологические изменения тканей [Ющик Л.В. и др., 1986, Morse B. et al., 2002]. Однако в доступной литературе мы не обнаружили исследований сократительных свойств гладких мышц бронхов в условиях формирования гиперреактивности воздухоносных путей у животных, хотя именно нарушение тонуса и реактивности бронхов является конечным патогенетическим звеном многих бронхолегочных заболеваний, в том числе бронхиальной астмы.

Ранее была продемонстрирована ассоциация полиморфизма С-703Т гена интерлейкина 5 с атопической бронхиальной астмой [Пузырев В.П., Огородова Л.М. и др., 2000]. Роль интерлейкина 5 в процессе развития эозинофилии в дыхательных путях была подтверждена с использованием моноклональных антител к интерлейкину 5 [Egan R.W. et al., 1999, Hitoshi Y., 1991]. Исследования на трансгенных животных (нокаут-мышьях по генам интерлейкина 5, растворимого рецептора интерлейкина 5 и животных с гиперэкспрессией этих генов) также подтверждают гипотезу о том, что интерлейкин 5 является одним из ключевых цитокинов, участвующих в развитии атопического воспаления при бронхиальной астме [Nishinakamura R. et al., 1996]. Интерлейкин 5 принимает непосредственное участие в развитии основных проявлений астмы, так как его гиперпродукция связана с эозинофилией в дыхательных путях и повышенной секрецией эозинофилами биологически активных веществ, которые стимулируют сокращение гладкой мускулатуры бронхов, секрецию слизи, вызывают альтерацию эпителия дыхательных путей, дегрануляцию тучных клеток и базофилов. Результатом чего является повреждение окружающих тканей [Coeffier E. et al, 1994, Wardlaw A.J., 1995].

Исследования с использованием моноклональных антител к интерлейкину 5 и рецептору интерлейкина 5 показали, что анти-интерлейкин -5 терапия, помимо редукции эозинофильного воспаления, может приводить к снижению гиперреактивности дыхательных путей при астме и улучшать функцию легких. Однако в исследованиях на морских свинках с экспериментальной бронхиальной астмой было отмечено, что для блокирования гиперреактивности дыхательных путей необходимы более высокие дозы

препаратов моноклональных антител к интерлейкину 5, чем для блокирования эозинофильного воспаления [Elbon C.L. et al., 1995, Hitoshi Y., 1991].

Данные Salvi S. et al. и Nakonarson H. et al. (1999) позволяют предположить, что интерлейкин 5 может непосредственно продуцироваться эпителиальными клетками воздухоносных путей и оказывать влияние на гладкие мышцы бронхов. Все это делает интерлейкин 5 перспективной терапевтической мишенью для селективного уменьшения тканевого воспаления, без иммуносупрессивных последствий, связанных с регулярным применением таких препаратов, как стероиды.

Все изложенное обуславливает актуальность и научную новизну настоящего исследования.

Цель работы:

Изучить сократительные свойства гладких мышц воздухоносных путей морских свинок в условиях сенсibilизации овальбумином и при воздействии интерлейкина 5.

Задачи:

1. Исследовать особенности гистаминергических, адренергических и холинергических сократительных реакций гладких мышц воздухоносных путей морских свинок при сенсibilизации овальбумином.

2. Изучить влияние бронхиального эпителия на характер гистаминергических, адренергических и холинергических сократительных реакций гладких мышц воздухоносных путей у морских свинок при сенсibilизации овальбумином.

3. Исследовать влияние интерлейкина 5 и рекомбинантного рецептора интерлейкина 5 на сократительные реакции гладких мышц бронхов морских свинок в условиях формирования гиперреактивности воздухоносных путей.

4. Методом математического моделирования исследовать кинетические параметры сократительных реакций гладких мышц воздухоносных путей в условиях формирования бронхиальной гиперреактивности.

Положения, выносимые на защиту:

1. Сенсibilизация овальбумином морских свинок приводит к формированию гиперреактивности воздухоносных путей, которая проявляется в усилении сократительных реакций на холинэргические и гистаминергические воздействия. Адренергические сократительные реакции сегментов воздухоносных путей сенсibilизированных животных зависят от предсокращающего фактора: в условиях предсокращения гистамином адренергическая реактивность не изменяется, а при предсокращении гиперкалиевым раствором Кребса- угнетается.

2. В условиях формирования гиперреактивности воздухоносных путей эпителий утрачивает способность модулировать сократительные реакции гладких мышц бронхов, которая у интактных животных проявляется в угнетении сократительных реакций на гистаминергические воздействия, потенциации - на холинергические и уменьшении степени расслабления на адренергические воздействия.

3. Инкубация гладкомышечных сегментов воздухоносных путей с интерлейкином 5 потенцирует сократительные реакции на гистаминергические

воздействия, уменьшает степень расслабления на адренергические воздействия как у интактных, так и у сенсibilизированных овальбумином животных. Рекомбинантный рецептор интерлейкина 5 (растворимая фракция) дозозависимо угнетает эффект интерлейкина 5, а инкубация с рецептором сегментов сенсibilизированных (но не интактных) животных подавляет гистаминергические сократительные реакции.

4. Увеличение максимального сокращения и сродства рецептора к лиганду отмечается после удаления респираторного эпителия, в условиях формирования сенсibilизации при сохраненном эпителиальном слое и при инкубации сегментов с интерлейкином 5. Снижение максимальной амплитуды сокращения и сродства рецептора к лиганду отмечается при инкубации сегментов сенсibilизированных животных с α -субъединицей рецептора интерлейкина 5.

Научная новизна:

Показано, что при сенсibilизации овальбумином морских свинок формируется гиперреактивность воздухоносных путей, которая проявляется в повышении сократительных реакций на холинэргические и гистаминергические воздействия.

Впервые показано, что предсокращающие факторы способны модулировать адренергические сократительные реакции деэпителизованных сегментов воздухоносных путей сенсibilизированных животных: в условиях предсокращения гистамином адренергическая реактивность не изменялась, а использование гиперкалиевого раствора Кребса в качестве предсокращающего фактора угнетало адренергическое расслабление сегментов.

Впервые показано, что влияние эпителия на адренергические реакции интактных животных зависит от характера предсокращающих факторов: потенциация при предсокращении гистамином и угнетение при предсокращении гиперкалиевым раствором Кребса. В условиях формирования гиперреактивности респираторный эпителий утрачивает способность модулировать сократительные реакции гладких мышц воздухоносных путей, которая у интактных животных проявляется угнетением сократительных реакций на гистаминергические воздействия и потенцированием их на холинэргические воздействия.

Впервые показано, что при инкубации гладкомышечных сегментов воздухоносных путей с интерлейкином 5 усиливаются сократительные реакции на гистаминергические воздействия, уменьшается степень расслабления на адренергические воздействия как у интактных, так и у сенсibilизированных животных.

Впервые показано, что растворимая субъединица рекомбинантного рецептора интерлейкина 5 дозозависимо снижает эффект экзогенного интерлейкина 5, а инкубация с рецептором сегментов сенсibilизированных (но не интактных) животных подавляет гистаминергические сократительные реакции.

С помощью метода математического моделирования показано, что сократительные реакции гладких мышц воздухоносных путей могут быть описаны системой кинетических уравнений обратимой химической реакции между лигандом и мембранным рецептором, сопровождающейся образованием комплекса лиганд-рецептор. Увеличение максимальной амплитуды ответа и сродства лиганда к рецептору отмечается после удаления респираторного эпителия, в условиях формирования

сенсibilизации при условии сохранности эпителиального слоя и при инкубации с интерлейкином 5 независимо от сохранности эпителия. Снижение максимальной амплитуды сокращения и сродства лиганда к рецептору отмечается при инкубации сегментов сенсibilизированных животных с α -субъединицей рецептора интерлейкина 5.

Научно-практическая значимость:

Результаты исследования вносят вклад в развитие фундаментальных представлений о механизмах локальной и регуляции сократительной активности гладкомышечных органов в условиях нормы и патологии. Полученные результаты позволяют определить перспективные направления поиска новых способов фармакологической коррекции расстройств респираторной системы. Разработанный способ оценки гиперреактивности воздухоносных путей у экспериментальных животных используется в Центральной научно-исследовательской лаборатории СибГМУ.

Результаты исследования внедрены в педагогический процесс на кафедре нормальной физиологии СибГМУ при преподавании курса «Физиология системы дыхания» и на кафедре биофизики и функциональной диагностики СибГМУ при преподавании курсов «Биофизика органов дыхания», «Биофизика гладких мышц», «Биофизика рецепции», «Внутриклеточные сигнальные системы». Модель бронхиальной астмы используется в научных исследованиях лаборатории биохимии ЦНИЛ Сибирского государственного медицинского университета.

Апробация работы. Основные результаты диссертации обсуждены на: на Пироговской научной конференции студентов - Томск 2000, Втором конгрессе молодых учёных и специалистов «Научная молодёжь на пороге XXI века» - Томск 2001, на Пироговской научной конференции студентов - Томск 2001, на Конференции, посвященной 150-летию член.-корр., профессора А.С. Догеля - Томск СГМУ 2002, III Международном конгрессе молодых учёных и специалистов «Науки о человеке» - Томск 2002, IV Съезде физиологов Сибири с международным участием - Новосибирск 2002, 12 Национальном Конгрессе по болезням органов дыхания - Москва 2002, , IV Международном конгрессе молодых учёных и специалистов «Науки о человеке» - Томск 2003, на Всероссийской научно-практической конференции «Электронные средства и системы управления» - Томск 2003, на четвертой международной научно-практической конференции «Здоровье и образование в XXI веке». – Москва 2003 г

Основные результаты диссертации опубликованы в 22 печатных работах.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 145 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», описания собственных результатов исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Диссертация иллюстрирована 38 рисунками и 1 таблицей. Список литературы содержит 189 источников, из них 65 отечественных и 124 иностранных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служили изолированные кольцевые гладкомышечные сегменты бронхов половозрелых морских свинок - самцов. Животные экспериментальной группы сенсибилизировались трехкратными подкожными инъекциями 0,1 мл на 100 г. массы тела животного 0,25% раствора овальбумина в физиологическом растворе (промежуток между инъекциями 3-4 дня). На 21 день животные подвергались ингаляционному воздействию аэрозоля того же раствора. Животные контрольной группы (интактные) подвергались воздействию физиологического раствора по аналогичной схеме.

Методика исследования: механическое напряжение (МН) кольцевых гладкомышечных сегментов бронхов регистрировали механотроном 6МХ1Б в условиях, близких к изометрическим, при температуре 37 °С в аэрируемом растворе Кребса. Исследования проводились на сегментах с сохраненным эпителием (интактных) и на деэпителизованных сегментах, при этом эпителий удалялся механически, вращением деревянного шпателя в просвете сегмента в течение 1 минуты.

Перед началом исследования сегменты тестировались воздействием гиперкалиевого раствора Кребса (40 мМ), амплитуда ответа на который принималась за 100%. Величины сократительных ответов на тестирующие растворы оценивались в % от амплитуды этого контрольного сокращения.

Для изучения влияния интерлейкина 5 и рецептора интерлейкина 5 деэпителизованные сегменты инкубировались в течение 18 часов в термостате при температуре 25⁰С в среде RPMI-1640 с добавлением интерлейкина в концентрации 0,1 мкг/мл и с добавлением α -субъединицы рецептора интерлейкина 5 в концентрациях 0,1; 0,5 и 1 мкг/мл.

Анализ данных проводился при помощи программы Statistica 6.0 for Windows фирмы Statsoft. Полученные данные представлены в виде «среднее \pm ошибка среднего» ($X \pm m$). Проверку на нормальность проводили с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Для оценки достоверности различий парных выборок использовались U критерий Манна Уитни и T-критерий Вилкоксона.

Используемые растворы:

Раствор Кребса следующего состава (в мМ): NaCl - 120,4; KCl - 5,9; CaCl₂ - 2,5; MgCl₂ - 1,2; глюкозы - 11,5; трис(оксиметил)-аминометана- 15,5; pH = 7,36 \pm 0,01.

Модифицированные растворы Кребса:

Гиперкалиевые растворы с концентрацией KCl 40, 60, 80, 100 и 120 мМ.

Тестирующие растворы готовились на основе раствора Кребса и его модификаций с добавлением соответствующих реактивов.

Используемые реактивы: пилокарпин, гистамин, сальбутамол (все производства России), овальбумин (ICN Biomedicals, Inc., США), рекомбинантный человеческий интерлейкин 5 (Biosource International, Inc., США), рецептор интерлейкина 5 (R&D Systems Inc., США).

Методика расчета кинетических характеристик: Нелинейное оценивание изменений механического напряжения гладкомышечных сегментов проводилось с

помощью программы Statistica 6.0 for Windows фирмы Statsoft методом Rosenbrock and quasi-Newton.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Морфологические изменения в стенке воздухоносных путей морских свинок при формировании гиперреактивности бронхов

При морфогистологическом исследовании сегментов бронхов определялась слизистая, собственная пластинка слизистой, волокнисто-хрящевая оболочка. Среди эпителиальных клеток преобладали эпителиоциты с признаками дистрофии: у них отсутствовали реснички на апикальной стороне, наблюдались грубая зернистость в цитоплазме, глыбчатость хроматина, пикноз ядра. Базальная мембрана извита и местами утолщена. В собственной пластинке слизистой оболочки мощный отек, скопление отечной жидкости отмечается под базальной мембраной и периваскулярно. В клеточном инфильтрате пластинки слизистой оболочки определялись дегранулированные эозинофилы и тучные клетки, которые локализовались, преимущественно, под базальной мембраной. Зоны локализации клеточного инфильтрата сочетались с эксфолиацией бронхиального эпителия в просвет бронха. Мышечные волокна собственной пластинки слизистой оболочки гипертрофированы.

В целом, гистологическая картина бронхов у морских свинок после сенсibilизации овальбумином во многом сходна с таковой у больных атопической бронхиальной астмой [Васильев П.Н. и др., 1974, Непомнящих Г.И., 1997]. Это дает основание рассматривать полученные далее результаты и в аспекте анализа механизмов патогенеза данного заболевания.

2. Исследование гистаминергических сократительных реакций гладких мышц бронхов морских свинок в условиях формирования гиперреактивности воздухоносных путей

В предварительной серии экспериментов была определена концентрация гиперкалиевого раствора Кребса, вызывающего полумаксимальное сокращение сегментов бронхов. Она оказалась равна 40 мМ КСl.

В первой серии экспериментов изучалось влияние гистамина в концентрациях 0,1 нМ – 100 мкМ на сократительную активность интактных сегментов бронхов морских свинок контрольной группы. Все сегменты отвечали на воздействие гистамина в концентрациях 0,01 мкМ – 100 мкМ дозозависимым сокращением (рис. 1). Максимальная амплитуда сокращения сегментов на гистамин в концентрации 100 мкМ составила $40,96 \pm 2,44$ % от контрольного сокращения на гиперкалиевый раствор Кребса (n=15). Гистамин вызывает сокращение гладких мышц (ГМ), взаимодействуя со специфическими гистаминовыми рецепторами плазмолеммы. Происходит инициация рецептор-управляемого входа Ca^{2+} в ГМК, освобождается Ca^{2+} из внутриклеточных депо и активируется фосфолипаза C [Ходоров Б.И. и др., 1976, Black J. et al., 1986].

Дезэпителизированные сегменты животных контрольной также отвечали дозозависимым сокращением на гистамин в концентрациях 0,01 мкМ – 100 мкМ (рис. 1). Максимальная амплитуда сокращения на гистамин в концентрации 100 мкМ была выше,

амплитуды сокращения интактных сегментов и составила $53,65 \pm 1,82$ % ($p < 0,05$, $n=9$). Различия в сократительных реакциях деэпителизированных и интактных сегментов могут объясняться тем, что при действии гистамина эпителий способен вырабатывать релаксирующие факторы, такие как, например, оксид азота, и тем самым уменьшать амплитуду контрактильных реакций [Капилевич Л.В., Анфиногенова Я.Д., 1997]. Поэтому при удалении эпителия амплитуда сокращений гладких мышц повышается.

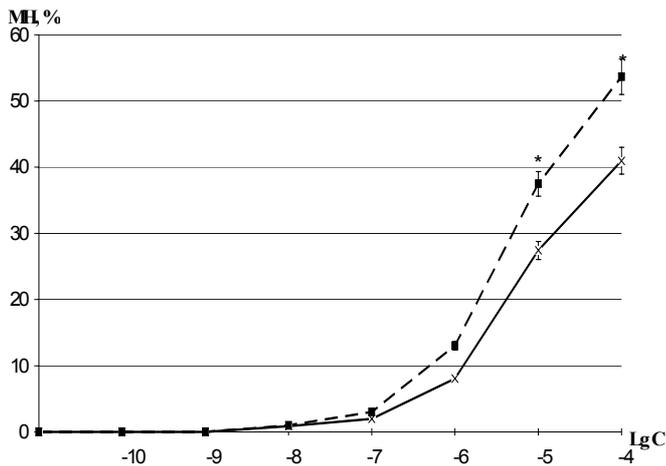


Рис. 1. Зависимость механического напряжения (МН) гладкомышечных сегментов бронхов морских свинок контрольной группы от концентрации гистамина.

Сплошная линия – интактные сегменты.

Пунктирная линия – сегменты без эпителия.

По оси ординат – механическое напряжение в процентах от амплитуды контрольного сокращения на гиперкалиевый раствор Кребса (МН, %).

По оси абсцисс – десятичный логарифм концентрации гистамина (Lg C).

* – достоверность различий в амплитудах сократительных реакций сегментов с сохраненным эпителием и без эпителия.

В следующей серии экспериментов изучались сократительные реакции на воздействие гистамина интактных сегментов сенсibilизированных морских свинок (экспериментальной группы). Все исследуемые сегменты отвечали сокращением на воздействие гистамина в концентрациях 0,1 мкМ – 100 мкМ, максимальная амплитуда сокращения на концентрацию 100 мкМ составила $73,36 \pm 6,32$ % ($n=13$). При этом на концентрации гистамина 10 и 100 мкМ, амплитуда сокращения сегментов животных экспериментальной группы была достоверно выше амплитуды сокращения сегментов животных контрольной группы (несенсibilизированных) ($p < 0,05$). Известно, что в условиях сенсibilизации овальбумином на бронхах повышена экспрессия рецепторов гистамина первого типа [Richard W.C. et al., 1999]. Этим можно объяснить более выраженное сократительное действие гистамина на гладкие мышцы бронхов, полученных от животных экспериментальной группы.

Деэпителизированные сегменты воздухоносных путей сенсibilизированных морских свинок также отвечали дозозависимым сокращением на воздействие гистамина в концентрациях 0,1 мкМ – 100 мкМ. Максимальная амплитуда сокращения сегментов на гистамин в концентрации 100 мкМ составила $89,74 \pm 7,49$ % ($n=18$) (рис. 2). Таким образом, амплитуда сокращения сегментов без эпителия, выделенных от сенсibilизированных животных, была достоверно выше амплитуды сокращения деэпителизированных сегментов животных контрольной группы на концентрации гистамина 10 мкМ ($p < 0,05$) и 100 мкМ ($p < 0,05$) (рис. 2). Этот факт также может объясняться увеличением количества рецепторов к гистамину на мембране ГМ воздухоносных путей в условиях сенсibilизации [Richard W.C. et al., 1999].

Различия в амплитуде гистаминергических сократительных реакций интактных и деэпителизированных сегментов сенсibilизированных морских отсутствовали. Это может быть связано с тем, что при сенсibilизации морских свинок овальбумином эпителий повреждается в первую очередь, что и было показано при морфологическом исследовании (см. стр. 8), и снижается продукция релаксирующих факторов [Busse W.W., Sedgwick J.B., 1992, Zou J. et al., 2002].

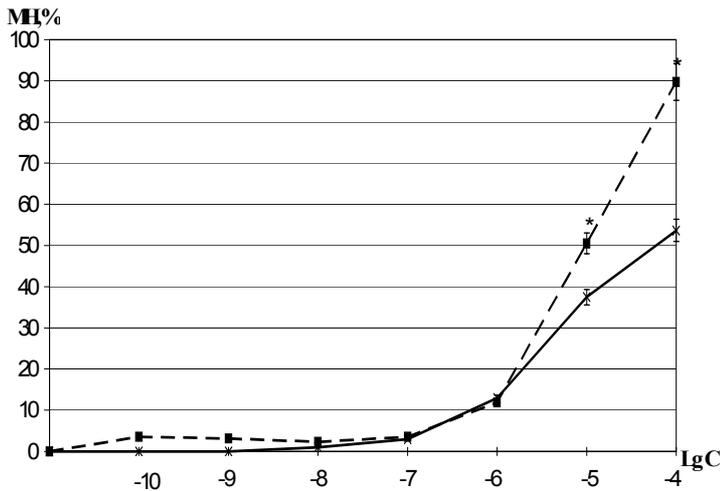


Рис. 2. Зависимость механического напряжения (МН) гладкомышечных сегментов бронхов интактных морских свинок и сенсibilизированных от концентрации гистамина (эпителий удалён).

Сплошная линия – сегменты морских свинок контрольной группы.

Пунктирная линия – сегменты сенсibilизированных морских свинок.

* - достоверность различий в амплитудах сократительных реакций сегментов интактных и сенсibilизированных морских свинок.

2. Исследование адренергических сократительных реакций гладких мышц бронхов морских свинок в условиях формирования гиперреактивности воздухоносных путей

Сальбутамол, агонист β_2 -адренорецепторов, в концентрациях 0,01 нМ – 10 мкМ вызывал дозозависимое снижение механического напряжения интактных сегментов животных контрольной группы, предварительно предсокращенных гиперкалиевым раствором Кребса (рис. 3). Максимальная величина расслабления на концентрацию сальбутамола 10 мкМ в контрольной группе достигала $81,42 \pm 2,66$ % от амплитуды предсокращения (n=14). Стимуляции β_2 -адренорецепторов гладких мышц воздухоносных путей приводит к активации аденилатциклазы, повышению содержания внутриклеточного цАМФ. Последний приводит к активации кальций – активируемых калиевых каналов, обуславливающих реполяризацию мембраны, активации кальциевых насосов плазмолеммы и саркоплазматического ретикулула, фосфорилированию киназы легких цепей миозина, расслаблению ГМК [Helmerich E.J., Pfeuffer T., 1985, Scheid C.R., Honeyman T.W., Fay F.S., 1979].

При изучении воздействия сальбутамола на деэпителизированные сегменты морских свинок контрольной группы, предсокращенные гиперкалиевым раствором Кребса, было выявлено дозозависимое расслабление всех сегментов на концентрации 0,01 нМ – 10 мкМ, максимальная амплитуда расслабления составила $59,59 \pm 3,05$ % от амплитуды предсокращения (n=11). При этом степень расслабления гладких мышц на

воздействие сальбутамола в концентрациях 1 мкМ ($p < 0,05$) и 10 мкМ была достоверно больше у деэпителизированных сегментов ($p < 0,05$) (рис. 3). Таким образом, удаление эпителия приводило к увеличению расслабления сегментов воздухоносных путей морских свинок контрольной группы. Возможно, что катехоламины, в отличие от гистамина, при предсокращении гиперкалиевым раствором Кребса потенцируют продукцию эпителием констрикторных факторов, на роль которых претендуют простагландины, лейкотриены [Ndukwu J.M. et al., 1994, Moffatt J.D. et al., 2004] или, может быть, угнетается выработка релаксирующих факторов эпителием, и преобладает выработка констрикторных.

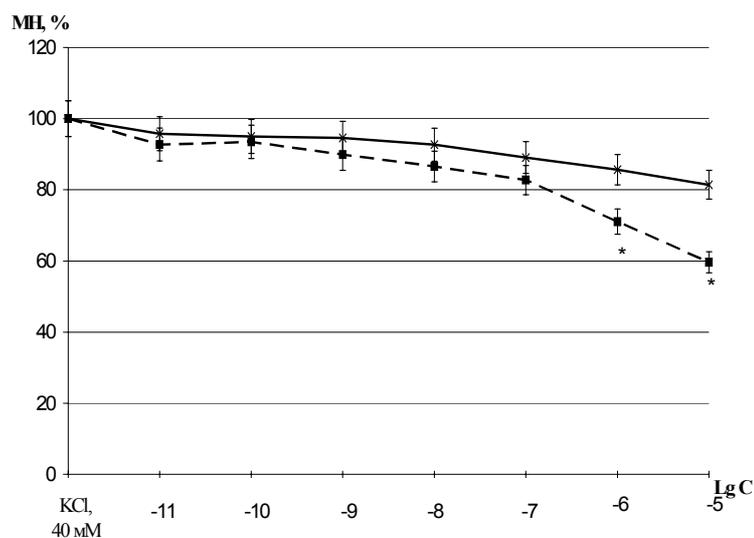


Рис. 3. Зависимость механического напряжения (МН) гладкомышечных сегментов бронхов морских свинок контрольной группы, предсокращенных гиперкалиевым раствором Кребса, от концентрации сальбутамола.

Сплошная линия – интактные сегменты.

Пунктирная линия – сегменты без эпителия.

По оси ординат – механическое напряжение в процентах от амплитуды предсокращения на гиперкалиевый раствор Кребса (МН, %).

По оси абсцисс – десятичный логарифм концентрации сальбутамола (Lg C).

* – достоверность различий в амплитудах ответных реакций сегментов с сохраненным эпителием и без эпителия.

Интактные сегменты сенсibilизированных овальбумином морских свинок, предсокращенные гиперкалиевым раствором Кребса, отвечали дозозависимым расслаблением на воздействие сальбутамола в концентрациях 0,01 нМ – 10 мкМ, максимальная величина расслабления на концентрацию 10 мкМ достигала $70,42 \pm 2,06$ % от амплитуды предсокращения ($n=8$). На концентрации сальбутамола 1 мкМ и 10 мкМ степень расслабления интактных сегментов экспериментальной группы была достоверно больше, чем интактных сегментов животных контрольной группы ($p < 0,05$).

Деэпителизированные сегменты сенсibilизированных морских свинок, предсокращенные гиперкалиевым раствором Кребса, также отвечали дозозависимым расслаблением на воздействие сальбутамола в концентрациях 0,1 нМ – 10 мкМ. Максимальное расслабление на воздействие сальбутамола в концентрации 10 мкМ составило $77,99 \pm 3,41$ % от амплитуды предсокращения ($n=14$) (рис. 4). Достоверной разницы в реакциях расслабления на воздействие сальбутамола интактных и деэпителизированных сегментов сенсibilизированных животных выявлено не было. Отсутствие различий в величинах расслабления интактных и деэпителизированных сегментов экспериментальной группы на действие сальбутамола может объясняться тем, что такие изменения эпителия при сенсibilизации как десквамация, гиперплазия бокаловидных клеток и отек приводят к необратимым повреждениям и потере

эпителием способности выделять не только релаксирующие факторы, но также и констрикторные [Fahy J.V. et al., 2000, Fahy J.V., 2001].

При сравнении амплитуд расслабления дезэпителизированных сегментов контрольной и экспериментальной групп, предсокращенных гиперкалиевым раствором Кребса, было обнаружено достоверно более сильное расслабление сегментов животных контрольной группы на концентрации сальбутамола 1 мкМ ($p < 0,05$) и 10 мкМ ($p < 0,05$) (рис. 4). Полученные результаты косвенно подтверждают данные ауторадиографических исследований, свидетельствующие об уменьшении количества β -адренорецепторов как в эпителии, так и в гладких мышцах при сенсibilизации животных [Mu J.Y., Bi S., 1989].

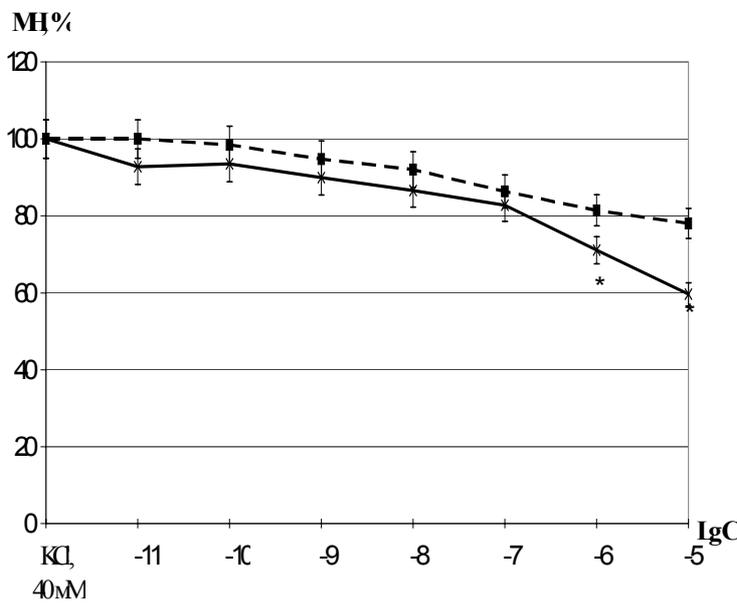


Рис. 4. Зависимость механического напряжения (МН) дезэпителизированных гладкомышечных сегментов бронхов морских свинок контрольной и экспериментальной групп, предсокращенных гиперкалиевым раствором Кребса, от концентрации сальбутамола.
 Сплошная линия – сегменты морских свинок контрольной группы.
 Пунктирная линия – сегменты сенсibilизированных морских свинок.
 По оси ординат – механическое напряжение в процентах от амплитуды предсокращения на гиперкалиевый раствор Кребса (МН, %).
 По оси абсцисс – десятичный логарифм концентрации сальбутамола (Lg C).
 * – достоверность различий в амплитудах ответных реакций сегментов интактных и сенсibilизированных морских свинок.

В следующей серии экспериментов при изучении воздействия сальбутамола на механическое напряжение гладкомышечных сегментов в качестве предсокращающего фактора был использован гистамин. При предсокращении гистамином, на воздействие сальбутамола эпителий сегментов животных контрольной группы усиливал реакции расслабления, видимо, выделяя релаксирующие факторы [Капилевич Л.В., Анфиногорова Я.Д., 1997]. Эпителий сегментов сенсibilизированных животных не оказывал модулирующего влияния на адренергические реакции гладких мышц

3. Исследование холинэргических сократительных реакций гладких мышц бронхов морских свинок в условиях формирования гиперреактивности воздухоносных путей

В первой серии экспериментов было изучено влияние пилокарпина, агониста M_2 -, M_3 -холинорецепторов, на интактные сегменты контрольной группы. Пилокарпин вызывал дозозависимое сокращение всех интактных сегментов в концентрации 0,1 нМ –

100 мкМ. Максимум амплитуды сокращения наблюдался на 100 мкМ пилокарпина и составил $69,87 \pm 2,54$ % (n=12). При действии пилокарпина на деэпителизированные сегменты контрольной группы также наблюдалось дозозависимое сокращение всех сегментов в ответ на концентрации агониста 0,1 нМ – 100 мкМ. При этом максимальная амплитуда сокращения при действии 100 мкМ пилокарпина была достоверно меньше, чем у интактных сегментов и составила $43,27 \pm 3,24$ % (n=18, $p < 0,001$).

В следующей серии экспериментов было исследовано влияние пилокарпина на интактные сегменты сенсibilизированных морских свинок. Все исследуемые сегменты отвечали сокращением, максимальная амплитуда составила $58,54 \pm 1,36$ % (n=9) на концентрацию пилокарпина 100 мкМ. Достоверной разницы между амплитудами сократительных реакций интактных сегментов контрольной и экспериментальной группами выявлено не было. Увеличение механического напряжения также наблюдалось при воздействии пилокарпина на деэпителизированные сегменты сенсibilизированных морских свинок. Максимум сокращения наблюдался на 100 мкМ пилокарпина, амплитуда равнялась $74,46 \pm 3,71$ % (n=13). Достоверных различий между амплитудами сокращения интактных и деэпителизированных сегментов экспериментальной группы выявлено не было.

Стимуляция M_2 -холинорецепторов приводит к подавлению активности аденилатциклазы, вероятно это связано с оккупацией M_2 -холинорецепторов сарколеммы, сопряженных с аденилатциклазой посредством G_i -белка [Сергеев П.В., 1987]. Воздействие на M_3 -холинорецепторы сопровождается повышением внутриклеточной концентрации Ca^{2+} . Эти процессы приводят к развитию сокращения. Эксперименты с удаленным эпителием позволяют предположить, что при холинергической стимуляции бронхов эпителий может вырабатывать констрикторные факторы, или может происходить угнетение выработки эпителием релаксирующих факторов, как и в случае адренергической стимуляции при предсокращении гиперкалиевым раствором Кребса. При сенсibilизации способность эпителия модулировать сократительные реакции гладких мышц на холинергические воздействия утрачивается.

Увеличение амплитуды сократительных реакций изолированных гладких мышц воздухоносных путей на воздействие пилокарпина при сенсibilизации может объясняться повышением количества M_3 -холинорецепторов [Tohda Y. et al., 2002].

4. Влияние интерлейкина 5 и рецептора интерлейкина 5 на сократительные реакции гладких мышц бронхов морских свинок в условиях формирования гиперреактивности воздухоносных путей

При изучении непосредственного влияния интерлейкина 5 (ИЛ-5) на сократительные реакции сегментов было установлено, что ИЛ-5 не оказывал влияние на механическое напряжение сегментов.

Инкубация с ИЛ-5 приводила к существенному увеличению амплитуды сократительных реакций деэпителизированных сегментов бронхов на воздействие гистамина как у сенсibilизированных животных, так и у животных контрольной группы. Было выявлено повышение амплитуды сокращения на воздействие гистамина в концентрации 10 и 100 мкМ как в контрольной ($p < 0,05$, n=13), так и в экспериментальной группах ($p < 0,05$, n=9) (рис. 5).

При воздействии сальбутамола на инкубированные с ИЛ-5 деэпителизированные сегменты, предсокращенные гиперкалиевым раствором Кребса, наблюдалось уменьшение степени расслабления как сегментов животных контрольной группы, так и сенсibilизированных животных.

Поскольку инкубация сегментов с ИЛ-5 приводит к столь значительному изменению их реактивности на гистамин и сальбутамол, то можно предположить, что ИЛ-5 оказывает непосредственное влияние на их функциональное состояние. Действие данного цитокина может опосредоваться через рецепторный комплекс [Takaki S., 1999, Takatsu K., 1992]. Рецепторы к ИЛ-5 обнаружены в гладкомышечных клетках воздухоносных путей [Bi Y., Yang Z., Wang C., 1998, Wang Y.X. et al., 2004]. По-видимому, взаимодействуя с рецепторами мембраны гладкомышечных клеток, ИЛ-5 способен модулировать сократительные свойства ГМ. Это может объяснять феномен ИЛ-5-опосредованной бронхиальной гиперреактивности при отсутствии эозинофильного повреждения тканей [Bi Y. et al., 1999].

Для проверки рецептор-специфичности описанной выше способности ИЛ-5 потенцировать гиперреактивность бронхов, в следующей серии экспериментов было проведено одновременное инкубирование сегментов в среде с добавлением ИЛ-5 и α -субъединицей рецептора данного цитокина в концентрациях 0,1; 0,5 и 1 мкг/мл. И в контрольной и в экспериментальной группах добавление в среду с ИЛ-5 его рецептора приводило к достоверному снижению амплитуды сократительных реакций на гистамин по сравнению с амплитудами сокращения при инкубации только с ИЛ-5. При этом величина снижения сокращения зависела от концентрации рецептора.

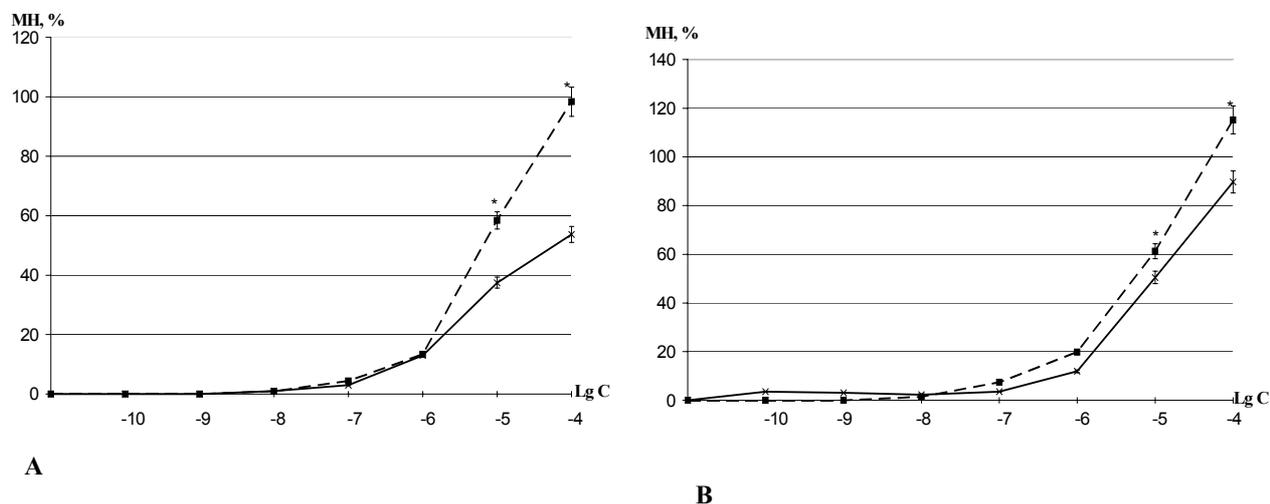


Рис. 5. Зависимость механического напряжения (МН) гладкомышечных сегментов бронхов интактных (А) и сенсibilизированных (В) морских свинок от концентрации гистамина.

Сплошная линия – деэпителизированные сегменты.

Пунктирная линия – деэпителизированные сегменты, инкубированные с ИЛ-5.

По оси ординат – механическое напряжение в процентах от амплитуды контрольного сокращения на гиперкалиевый раствор Кребса (МН, %).

По оси абсцисс - десятичный логарифм концентрации гистамина (Lg C).

* - достоверность различий в амплитудах сократительных реакций неинкубированных сегментов и инкубированных с ИЛ-5.

Проведенные эксперименты с добавлением в среду при инкубации одновременно α -субъединицы рецептора ИЛ-5 и самого ИЛ-5 свидетельствуют о способности рецептора связывать экзогенный ИЛ-5, устраняя его действие, направленное на повышение реактивности гладких мышц воздухоносных путей на воздействие гистамина.

В следующей серии экспериментов было изучено влияние рецептора ИЛ-5 на сократительные реакции сегментов, не предобработанных ИЛ-5. Инкубация гладкомышечных сегментов только с α -субъединицей рецептора ИЛ-5 приводила к снижению гистаминергических сократительных реакций только сегментов сенсibilизированных животных. Сократительные реакции на гистамин сегментов животных контрольной группы при инкубации с рецептором ИЛ-5 не изменялись (рис. 6). Полученные данные позволяют предположить, что в условиях сенсibilизации повышается содержание в ткани эндогенного ИЛ-5 и при инкубации с рецептором последний способен связывать эндогенный интерлейкин, выполняя роль своеобразной «ловушки».

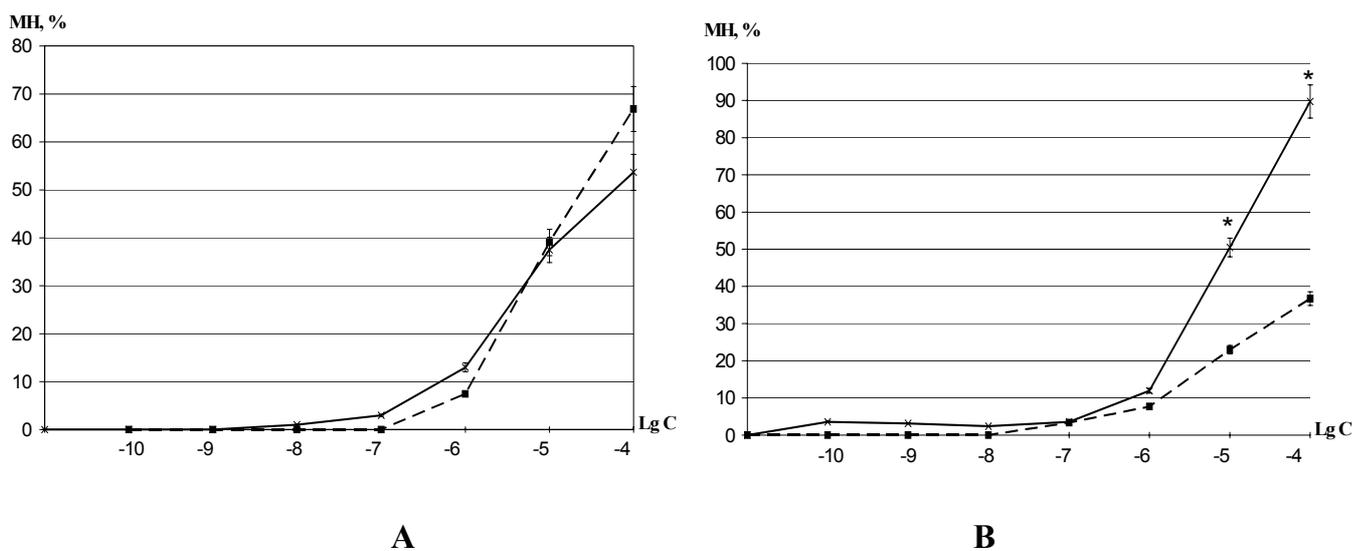


Рис. 6. Зависимость механического напряжения (МН) гладкомышечных сегментов бронхов интактных (А) и сенсibilизированных (В) морских свинок от концентрации гистамина.

Сплошная линия – деэпителизированные сегменты.

Пунктирная линия – деэпителизированные сегменты, инкубированные с рецептором ИЛ-5 в концентрации 1 мкг/мл.

По оси ординат – механическое напряжение в процентах от амплитуды контрольного сокращения на гиперкалиевый раствор Кребса (МН, %).

По оси абсцисс - десятичный логарифм концентрации гистамина (Lg C).

* - достоверность различий в амплитудах сократительных реакций неинкубированных сегментов и инкубированных с рецептором ИЛ-5.

5. Кинетическая модель сократительных реакций гладких мышц воздухоносных путей

Для количественного описания взаимодействия физиологически активных соединений с рецепторами мембран широко используется кинетическая теория взаимодействия лигандов с рецепторами [Говырин В.А., 1994, Ariense E.J., 1964]. Математическое выражение этой теории было предложено Кларком [Clark A.J., 1926]. С помощью этого уравнения по имеющимся экспериментальным данным можно определить кинетические параметры, описывающие определенную сократительную реакцию, такие как максимальный эффект реакции (E_{max}), отражающий количество рецепторов, и константу диссоциации лиганд-рецепторного комплекса (K_{dis}), отражающую сродство рецептора к медиатору. Степень соответствия данного уравнения экспериментальным данным выражается величиной R (квадрат смешанной корреляции), соответствие считается достоверным, если $R > 0,99$.

При оценке взаимодействия гистамина с рецепторами гладкомышечных клеток было выявлено, что количество рецепторов и сродство рецепторов к гистамину повышаются: при сенсibilизации, при удалении эпителия и при инкубации сегментов с ИЛ-5.

Инкубация сегментов экспериментальной группы с α -субъединицей ИЛ-5 снижает величину сократительного ответа на воздействие гистамина и сродство гистамина к рецептору.

Заключение

В современной физиологии и медицине много внимания уделяется изучению механизмов регуляции электрических и сократительных свойств гладких мышц внутренних органов. Исследование этих свойств помогает раскрыть глубинные механизмы патогенеза заболеваний и разработать новые способы коррекции патологических состояний [Баскаков М.Б., Медведев М.А., 1987, Капилевич Л.В. и др., 1994]. Особое значение такие исследования имеют для системы дыхания, так как значительная часть заболеваний респираторной системы связана с нарушением регуляторных механизмов гладкомышечных клеток стенки воздухоносных путей [Абросимов В.Н., 1990, Sato Y. Et al., 1998].

Перспективным путем выяснения упомянутых механизмов является моделирование дисфункции респираторного тракта у экспериментальных животных [Елисеева Е.В., 1997, Tohda Y. et al., 2002]. В данном исследовании моделью дисфункции респираторного тракта явились сенсibilизация морских свинок овальбумином и инкубация гладкомышечных сегментов с интерлейкином 5.

Гистологическая картина бронхов у морских свинок после сенсibilизации овальбумином во многом аналогична таковой у людей больных атопической бронхиальной астмой (БА) [Васильев П.Н. и др., 1974, Непомнящих Г.И., 1997]. Полученные данные позволяют провести определенные параллели между гиперреактивностью воздухоносных путей морских свинок при сенсibilизации овальбумином и гиперреактивностью бронхов у больных бронхиальной астмой.

В основе острых аллергических реакций, например, бронхоспазма, лежит гиперчувствительность немедленного типа. Ее опосредуют биологически активные вещества, которые высвобождаются тучными клетками при взаимодействии аллергена с IgE на поверхности клеток: гистамин, триптаза и др. [Тузлукова Е.Б. и др., 2002]. При БА в бронхах повышена экспрессия рецепторов гистамина первого типа [Richard W.C. et al., 1999]. Выявленное в данной работе увеличение максимальной амплитуды сокращения сегментов сенсibilизированных животных может свидетельствовать об увеличении в них количества рецепторов к гистамину. Это может объяснить более выраженное действие гистамина на гладкие мышцы бронхов, полученных от животных экспериментальной группы.

Увеличение амплитуды сократительных реакций изолированных гладких мышц воздухоносных путей на холинергические воздействия при сенсibilизации может также объясняться повышением количества M_3 -холинорецепторов [Tohda Y. et al., 2002], стимуляция которых ведет к входу Ca^{2+} в клетку и развитию сокращения.

Уменьшение степени расслабления гладкомышечных сегментов сенсibilизированных животных при действии β_2 -адреномиметика, вероятно, связано с уменьшением количества β_2 -адренорецепторов [Mu J.Y., Bi S., 1989].

Было выявлено, что функции эпителия интактных животных при адренергических воздействиях зависят от предсокращающего фактора. Если предсокращение проводится гиперкалиевым раствором Кребса, то эпителий снижает степень расслабления, по-видимому, выделяя констрикторные факторы, на роль которых претендуют ацетилхолин, простаноиды и пептидсодержащие лейкотриены C_4 и E_4 [Moffatt J.D., Cocks T.M., Page C.P., 2004, Ndukwu J.M. et al., 1994]. При предсокращении гистамином эпителий вовлекается в реакции расслабления, усиливая их, видимо, выделяя релаксирующий фактор, возможно, NO [Ellis J.L., Conanan N., 1994]. При гистаминергических воздействиях эпителий интактных морских свинок снижает амплитуду контрактильных реакций, а при холинергических воздействиях – повышает ее.

При сенсibilизации происходит нарушение целостности эпителиального пласта, возникают необратимые органические изменения стенки воздухоносных путей, это ведет к дефициту нитроксида азота бронхорелаксации, потере эпителием эндокринных функций [Сепиашвили Р.И. и др., 2003, Zou J. et al., 2002]. Эпителий утрачивает способность модулировать ответные реакции гладких мышц на различные воздействия. Таким образом, это может быть причиной отсутствия различий между сократительными реакциями сегментов с эпителием и без эпителия у сенсibilизированных морских свинок.

Выявленное увеличение сокращений гладких мышц бронхов на гистамин у животных обеих групп при их инкубации с ИЛ-5, как это показано в нашем исследовании, возможно происходит за счет взаимодействия данного интерлейкина со своими рецепторами в гладкомышечных клетках. ИЛ-5 - индуцированное развитие гиперчувствительности гладких мышц бронхов может быть физиологической основой для гиперреактивности воздухоносных путей при бронхиальной астме. При этом инкубация гладкомышечных сегментов с данным цитокином, возможно, посредством

тех же механизмов подавляет дилатационные реакции на сальбутамол, что тоже может вносить вклад в повышение сократительных реакций при БА.

Наблюдаемое уменьшение сократительных реакций гладкомышечных сегментов при их инкубации с рецептором ИЛ-5 может свидетельствовать о способности растворимого рецептора связывать как экзогенный интерлейкин, добавленный в среду при инкубации, так и эндогенный, находящийся или (и) выделяющийся гладкомышечными клетками сегментов сенсibilизированных животных.

Полученные результаты, на наш взгляд, позволяют обсудить перспективу использования растворимой формы α -субъединицы рецептора ИЛ-5 для блокирования действия этого интерлейкина на клетки, устраняя эффекты, опосредованные им. Такой подход может лечь в основу принципиально нового, патогенетически обоснованного способа коррекции бронхоспастических состояний.

Выявленные кинетические характеристики показали, что, реактивность на гистамин и сродство рецепторов к гистамину выше у сегментов экспериментальной группы, чем у сегментов контрольной группы. При удалении эпителия увеличивается максимальный эффект и сродство рецептора к медиатору в обеих группах животных.

Инкубация с ИЛ-5 повышает максимальную амплитуду сократительных реакций и сродство рецепторов к действующему медиатору – гистамину, как в контрольной группе, так и в экспериментальной. При инкубировании сегментов животных экспериментальной группы с α -субъединицей рецептора ИЛ-5 снижаются сократительные реакции на воздействие гистамина и сродство рецепторов к гистамину.

Выводы

1. Сенсibilизация овальбумином морских свинок приводит к формированию гиперреактивности воздухоносных путей, которая проявляется в увеличении амплитуды сократительных реакций на холинэргические и гистаминергические воздействия.

2. Характер адренергических сократительных реакций сегментов воздухоносных путей сенсibilизированных животных зависит от предсокращающего фактора: в условиях предсокращения гистамином адренергическая реактивность не изменялась, а предсокращение гиперкалиевым раствором Кребса угнетало адренергическое расслабление сегментов.

3. Респираторный эпителий угнетает сократительные реакции сегментов воздухоносных путей интактных животных на гистаминергические воздействия, потенцирует сократительные реакции на холинэргические воздействия. Влияние эпителия на адренергические реакции зависит от предсокращающего фактора: они потенцировались при предсокращении гистамином и угнетались при предсокращении гиперкалиевым раствором Кребса. В условиях формирования гиперреактивности эпителий утрачивает способность модулировать ответные реакции гладких мышц воздухоносных путей.

4. Инкубация гладкомышечных сегментов воздухоносных путей с интерлейкином 5 потенцирует сократительные реакции на гистаминергические воздействия, уменьшает степень расслабления на адренергические воздействия как у интактных, так и у сенсibilизированных животных. Рекомбинантный рецептор интерлейкина 5 (растворимая фракция) дозозависимо нейтрализует эффект экзогенного интерлейкина 5, а инкубация с рецептором сегментов сенсibilизированных (но не интактных) животных угнетает гистаминергические сократительные реакции.

5. Кинетические характеристики сократительных реакций гладких мышц воздухоносных путей моделируются на основе системы уравнений обратимой химической реакции между лигандом и мембранным рецептором, сопровождающихся образованием комплекса лиганд-рецептор. Увеличение максимальной амплитуды ответа и сродства рецепторов к гистамину отмечается после удаления респираторного эпителия, в условиях формирования сенсibilизации при условии сохранности эпителиального слоя и при инкубации с интерлейкином 5. Снижение максимального ответа и сродства рецепторов к гистамину отмечается при инкубации сегментов сенсibilизированных животных с α -субъединицей рецептора интерлейкина 5.

**СПИСОК РАБОТ,
ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Гистаминергическая регуляция гладких мышц легочных сосудов. //Сборник трудов Конференции СНО СГМУ. Томск, 2000. – С. 66. (Соавт. Носарев А.В.)
2. Исследование механизмов гистамин-индуцированного сокращения гладких мышц сосудов круга кровообращения кролика. // Вестник СГМУ: ежеквартальное периодическое издание СМУ. -Томск, 2000. -N2 (Спец. вып.). - С. 126-127. (Соавт. Носарев А.В.)
3. Изучение механизмов адренэргической регуляции сосудов малого круга кровообращения. // Сборник трудов Конференции СНО СГМУ. - Томск, 2001, С. 199-200. (Соавт. Федоров Д.А.)
4. Роль эндотелия в регуляции гистаминэргических сократительных реакций гладких мышц легочной артерии кролика. // Вестник Российского государственного медицинского университета. - №2 (17), 2001, С. 133. (Соавт. Федоров Д.А.)
5. Адренэргическая регуляция гладких мышц легочных сосудов. //«НАУКИ О ЧЕЛОВЕКЕ» - Материалы второго конгресса молодых учёных и специалистов «Научная молодёжь на пороге XXI века». Томск, 17-18 мая 2001, С. 79. (Соавт. Носарев А.В.)
6. Особенности гистаминэргической регуляции гладких мышц легочных артерий кролика. //Бюлл. exper. биол. и мед.-2001.-Т.132,N8.-С.142-144. (Соавт. Капилевич Л.В., Анфиногорова Я.Д., Баскаков М.Б., Носарев А.В., Медведев М.А.)
7. Морфофункциональная характеристика сосудистой стенки легочной артерии кролика. //Актуальные вопросы экспериментальной и клинической морфологии под редакцией профессора С.В. Логвинова. - Томск: СГМУ, 2002.- с. 128 (сборник научных трудов, посвященный 150-летию член.-корр., профессора А.С. Догеля. (Соавт. Капилевич Л.В., Баскаков М.Б., Фролов В.Н., Носарев А.В., Михуля Е.П., Анфиногорова Я.Д.)
8. Особенности регуляции тонуса гладких мышц легочной артерии кролика. //Материалы третьего международного конгресса молодых учёных и специалистов - «НАУКИ О ЧЕЛОВЕКЕ». Томск, 16-17 мая 2002, С. 186. (Соавт. Носарев А.В.)
9. Особенности регуляции гладких мышц сосудистой стенки легочной артерии кролика. //Рос.Физ.ж.им.Сеченова-2002-Т.83,N4,-С.452-458 (Соавт. Капилевич Л.В., Носарев А.В., Баскаков М.Б., Анфиногорова Я.Д., Фролов В.Н., Медведев М.А.)
10. Особенности регуляции гладких мышц сосудистой стенки легочной артерии кролика. //Сб. тез. докл. мат. IV Съезда физиологов Сибири с межд. участием, Новосибирск, 2002- С.109.(Соавт. Капилевич Л.В., Носарев А.В., Баскаков М.Б., Анфиногорова Я.Д.)
11. Особенности адренэргической регуляции гладких мышц легочных артерий кролика. //Бюлл. exper. биол. и мед.-2002.-Т.133,N1.-С.47-50. (Соавт. Капилевич Л.В., Анфиногорова Я.Д., Баскаков М.Б., Носарев А.В., Медведев М.А.)
12. Особенности регуляции гладких мышц сосудистой стенки легочной артерии кролика. //Пульмонология, (12 нац. конгресс по болезням морг. дыхания) Москва, 2002- С.143. (Соавт. Капилевич Л.В., Носарев А.В., Анфиногорова Я.Д., Баскаков М.Б.)

13. Сократительные реакции гладких мышц воздухоносных путей при бронхиальной астме в эксперименте. // Бюллетень Сибирской медицины.- 2003. -Том2, №1. - С. 35-38. (Соавт. Капилевич Л.В., Носарев А.В., Сазонов А.Э., Геренг Е.А.)
14. Регуляция сократительной активности гладких мышц воздухоносных путей при модельной бронхиальной астме. // Сборник статей по материалам IV конгресса молодых ученых и специалистов «Науки о человеке». Томск, 15-16 мая 2003 г. С. 151-152. (Соавт. Носарев А.В., Высоких Е.В.)
15. Сократительные реакции гладких мышц воздухоносных путей при экспериментальной бронхиальной астме. // Вестник Российского государственного медицинского университета.- №2 (28), 2003, С.164.
16. Исследование роли циклических нуклеотидов в регуляции механического напряжения сегментов легочных артерий кролика. // Сборник статей IV конгресса молодых ученых и специалистов «Науки о человеке», Томск, 15-16 мая, 2003 г. с. 167-168. (Соавт. Носарев А.В., Султанова А.Н.)
17. Влияние интерлейкина-5 на сократительную активность гладкомышечных препаратов бронхов морских свинок. // Сборник статей по материалам IV конгресса молодых ученых и специалистов «Науки о человеке». Томск, 15-16 мая 2003 г. С. 161-162. (Соавт. Лещёва И.С., Копьева А.П., Сазонов А.Э.)
18. Особенности регуляции гладких мышц дыхательного тракта при экспериментальной бронхиальной астме. // Научные труды 4-ой международной научно-практической конференции «Здоровье и образование в XXI веке». – Москва 23-25 мая 2003 г. С. 220-221.
19. Роль циклических нуклеотидов в регуляции тонуса легочных артерий кролика. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2003, Т.135, № 6, с. 714-718. (Соавт. Капилевич Л.В., Носарев А.В., Баскаков М.Б.)
20. Морфологические особенности и механизмы регуляции тонуса стенки легочных артерий. // Пульмонология, 2003, Т. 13, №4, С. 51-57. (Соавт. Капилевич Л.В., Носарев А.В., Фролов В.Н., Баскаков М.Б., Анфиногенова Я.Д., Медведев М.А.)
21. Изменение сократительной активности гладких мышц воздухоносных путей при действии интерлейкина-5. // Вестник Российского государственного медицинского университета.- №3 (34), 2004, С.159-160. (Соавт. Зайцева Т.Н.)
22. Влияние блокаторов фосфодиэстеразы на механическое напряжение гладких мышц легочной артерии. // Вестник Российского государственного медицинского университета.- №3 (34), 2004, С. 174. (Соавт. Носарев А.В.)

Подписано в печать 23.04.2004 г Тираж 100 экз.

Усл.печ.листов 1,0. Печать на ризографе.

Отпечатано в лаборатории оперативной полиграфии СибГМУ

634050, г. Томск, Московский тракт, 2, тел. 53-04-08

Заказ № _____

Тираж 100 экземпляров