



# Миопротективное действие неквантового ацетилхолина: модель миопатического компонента хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии *in vitro*

А.В. Гавриченко<sup>1,2</sup>, Н.А. Пасатецкая<sup>1,3</sup>, М.Г. Соколова<sup>4</sup>, Е.В. Лопатина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет имени А.И. Герцена», Санкт-Петербург, Россия

## Аннотация

**Введение.** Хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия (ХВДП) — одна из наиболее часто встречающихся первичных полиневропатий. В основе мышечной атрофии при ХВДП лежит денервационный процесс, в то же время восстановление мышечной силы у пациентов на фоне патогенетического лечения может происходить не в полной мере, продлевая период нетрудоспособности. Сведения о факторах, влияющих на трофическую функцию мышечной ткани, могут быть использованы для лечения нервно-мышечных болезней.

**Цель исследования** — изучить трофотропные свойства плазмы крови участников исследования и миопротективное действие ацетилхолина в концентрации, сопоставимой с неквантовым выбросом, на модели миопатического компонента ХВДП *in vitro*.

**Материалы и методы.** В исследование включены 25 пациентов с диагнозом: типичная форма ХВДП согласно критериям EFNS/PNS 2010. Контрольную группу составили 25 здоровых добровольцев. У всех участников исследования измеряли уровень антител к никотиновым холинорецепторам в плазме крови. Разработаны методика органотипического культивирования ткани скелетной мышцы и модель миопатического компонента ХВДП *in vitro*. Проведена оценка влияния плазмы крови участников исследования на рост эксплантатов ткани скелетной мышцы в условиях органотипического культивирования.

**Результаты.** У больных ХВДП выявлены полиневритический синдром с симметричными двигательными и чувствительными нарушениями разной степени выраженности (100%); синдром мышечных атрофий (88%) и синдром сенситивной атаксии (84%). По шкале инвалидизации (ODSS INCAT) в руках медиана составила 2 [1; 3] балла, в ногах — 3 [2; 5] балла. По Шкале невропатических нарушений (NIS) медиана составила 17 [10; 34] баллов. Уровень антител к никотиновым холинорецепторам у пациентов с ХВДП (0,47 [0,31; 0,54] нмоль/л) был выше, чем в контрольной группе (0,02 [0,01; 0,03] нмоль/л). Впервые в условиях органотипического культивирования ткани скелетной мышцы обнаружен миотоксический эффект плазмы крови пациентов с ХВДП. В разведениях 1 : 70 об. и 1 : 100 об. плазма крови больных ингибировала рост эксплантатов ткани скелетной мышцы на 27% ( $n = 120$ ;  $p < 0,001$ ) и 21% ( $n = 120$ ;  $p < 0,001$ ) соответственно. Данный миотоксический эффект устранял ацетилхолин в концентрации, сопоставимой с неквантовым выбросом ( $10^{-8}$  М).

**Заключение.** Полученные результаты расширяют представление о повреждении скелетных мышц при ХВДП и роли неквантового ацетилхолина в регуляции трофики скелетной мышцы.

**Ключевые слова:** неквантовый ацетилхолин; хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия; органотипическая культура ткани

**Источник финансирования.** Работа выполнена при поддержке Госпрограммы № 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 0134-2019-0001.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Адрес для корреспонденции:** 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8. ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. E-mail: arthurgavrichenko@gmail.com. Гавриченко А.В.

**Для цитирования:** Гавриченко А.В., Пасатецкая Н.А., Соколова М.Г., Лопатина Е.В. Миопротективное действие неквантового ацетилхолина: модель миопатического компонента хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии *in vitro*. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2022; 16(3): 41–46.

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2022.3.5>

Поступила 23.11.2021 / Принята в печать 18.04.2022 / Опубликовано 30.09.2022

# The myoprotective effect of non-quantal acetylcholine: *in vitro* model of the myopathy component of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy

Arthur V. Gavrichenko<sup>1,2</sup>, Natalia A. Pasatetckaia<sup>1,4</sup>, Maria G. Sokolova<sup>4</sup>, Ekaterina V. Lopatina<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg, Russia;

<sup>3</sup>Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia;

<sup>4</sup>Herzen State Pedagogical University of Russia, St. Petersburg, Russia

## Abstract

**Introduction.** Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIPD) is one of the most common primary polyneuropathies. A degenerative process is the underlying cause of muscular atrophy in CIPD, while muscle strength may not fully recover in patients after pathogenesis-based treatment, thus extending the period of disability. Information about factors affecting the trophic function of muscles can be used to treat neuromuscular disorders.

**Study aim** — to examine the trophotropic properties of the study participants' blood plasma and the myoprotective effect of acetylcholine concentration equivalent to non-quantal release, using an *in vitro* model of the myopathy component of CIPD.

**Materials and methods.** The study included 25 patients diagnosed with typical CIPD in accordance with the EFNS/PNS 2010 criteria. The control group consisted of 25 healthy individuals. Serum antibody levels to the nicotinic acetylcholine receptor were measured in all study participants. A method for organotypic cultivation of skeletal muscle tissue and an *in vitro* model of the myopathy component of CIPD were developed. The effect of the study participants' blood plasma on the growth of skeletal muscle explants in organotypic culture was assessed.

**Results.** Patients with CIPD were found to have symmetrical sensorimotor polyneuropathy of varying severity (100%); muscle atrophy (88%), and sensory ataxia (84%). The median INCAT Overall Disability Sum Score was 2 [1; 3] for the arms and 3 [2; 5] for the legs. The median Neurological Impairment Scale (NIS) score was 17 [10; 34]. The nicotinic acetylcholine receptor antibody levels were higher in patients with CIPD (0.47 [0.31; 0.54] nmol/l) than in the control group (0.02 [0.01; 0.03] nmol/l). For the first time, a myotoxic effect of the blood plasma from patients with CIPD was observed in organotypic skeletal muscle culture. Using 1:70 and 1:100 dilutions, patient blood plasma inhibited the growth of explants by 27% ( $n = 120$ ;  $p < 0.001$ ) and 21% ( $n = 120$ ;  $p < 0.001$ ), respectively. This myotoxic effect removed acetylcholine at a concentration equivalent to non-quantal release ( $10^{-8}$  M).

**Conclusion.** These results expand our understanding of skeletal muscle damage in CIPD and the role of non-quantal acetylcholine in regulating skeletal muscle growth.

**Keywords:** non-quantal acetylcholine; chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy; organotypic tissue culture

**Source of funding.** This study was supported by the State Program 47 GP "Scientific and Technological Development of the Russian Federation" (2019-2030), theme 0134-2019-0001.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For correspondence:** 197022, Russia, St. Petersburg, L'va Tolstogo str., 6-8. First Saint Petersburg State Medical University. E-mail: arthrgavrichenko@gmail.com. Gavrichenko A.V.

**For citation:** Gavrichenko A.V., Pasatetckaia N.A., Sokolova M.G., Lopatina E.V. The myoprotective effect of non-quantal acetylcholine: *in vitro* model of the myopathy component of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2022; 16(3): 41–46. (In Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2022.3.5>

Received 23.11.2021 / Accepted 18.04.2022 / Published 30.09.2022

## Введение

Хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия (ХВДП) — прогрессирующая или ремиттирующе-рецидивирующая иммуноопосредованная невропатия, вовлекающая в процесс моторные и сенсорные волокна (с преобладанием моторного компонента) [1]. В основе патологического процесса лежит хроническое демиелинизирующее аутоиммунное повреждение нервных волокон с вторичной аксонопатией, приводящей к денервационной мышечной атрофии [1]. Известны как функциональные, так и морфологические изменения в мышцах при ХВДП [2–4]. Так, по данным МРТ мышц, при ХВДП наблюдается значительное уменьшение объема мышц голени. Передняя и задняя группы мышц голени вовлекаются в дистро-

фический процесс в одинаковой степени, несмотря на их различную иннервацию [5]. Имеются данные о том, что в поддержание трофических свойств скелетных мышц вносит вклад холинергическая регуляция в нервно-мышечном синапсе. Ацетилхолин (АХ) — главный нейромедиатор в нервно-мышечном соединении, способный выделяться в синаптическую щель не только в квантовом виде, но и в виде «неквантовой утечки» [6]. Экспериментальные исследования показали, что АХ, выделяющийся в неквантовом виде (неквантовый АХ), повышает работоспособность непрерывно утомляемой скелетной мышцы [7–9]. Квантовый АХ, взаимодействуя с никотиновым холинорецептором, вызывает деполаризацию мышечного волокна, а также обеспечивает трофический сигнал, который предотвращает атрофию мышцы [10].

**Цель исследования** — изучить трофотропные свойства плазмы крови участников исследования и миопротективное действие АХ в концентрации, сопоставимой с некантовым выбросом, на модели миопатического компонента ХВДП *in vitro*.

Настоящее исследование включало клиническую и экспериментальную части. Задачи клинической части: сформировать экспериментальную и контрольную группы, провести клинико-лабораторное обследование, оценить наличие антител к никотиновым холинорецепторам в плазме крови обследуемых. Задачей экспериментальной части было изучение трофических свойств плазмы крови участников исследования и миопротективного действия АХ в условиях органотипического культивирования ткани скелетной мышцы.

## Материалы и методы

### Характеристика обследованных больных

Под наблюдением находились 25 пациентов (14 мужчин и 11 женщин). Возраст больных составил 47–66 лет (медиана возраста 54 [50; 61] года). Все участники исследования подписали письменное информированное согласие. Всем пациентам был выставлен диагноз: ХВДП, достоверная по критериям EFNS/PNS 2010, типичная форма [11]. Контрольную группу составили 25 здоровых добровольцев (13 мужчин и 12 женщин) в возрасте 42–60 лет (медиана возраста 55 [49; 57] лет).

### Методы исследования

Проводились клинико-лабораторное и экспериментальное исследования.

Клинико-лабораторное исследование включало оценку неврологического статуса, данных анамнеза и биохимического исследования крови: уровень антител к никотиновым холинорецепторам методом иммуноферментного анализа (ИФА). Все биологические материалы взяты у пациентов до лечения.

Экспериментальное исследование было направлено на изучение миорегуляторных свойств плазмы крови в экспериментальных условиях с использованием метода органотипического культивирования ткани скелетной мышцы.

### Экспериментальный метод

В качестве экспериментальных животных использовали 10–12-дневные куриные эмбрионы. Объектами исследования являлись культивируемые эксплантаты ткани скелетной мышцы бедра. Каждая серия экспериментов включала 120 контрольных эксплантатов и 120 экспериментальных эксплантатов на каждую исследованную концентрацию действующих веществ. Всего в работе исследовано 960 эксплантатов ткани скелетной мышцы.

Эмбриональную мышечную ткань препарировали на отдельные фрагменты размером 0,5–1,0 мм и помещали в чашки Петри диаметром 40 мм на коллагеновую подложку. Каждая чашка Петри содержала 15–20 эксплантатов ткани мышцы бедра. Далее чашки Петри помещали в термостат при 37°C на 6 мин, заливали по 3 мл питательной среды,

состоящей из раствора Хенкса (50% об.), среды Игла (40% об.), эмбриональной телячьей сыворотки (9,5% об.), глюкозы 40% (0,5% об.), ципрофлоксацина (2 мг/мл). Затем ставили в термостат на 30 мин, после чего добавляли плазму крови пациентов в разведении 1 : 30 об., 1 : 70 об., 1 : 100 об. В ряде экспериментов исследовали действие АХ в концентрации  $10^{-8}$  М, а также действие плазмы крови пациентов в разведении 1 : 70 об. в присутствии АХ в дозе  $10^{-8}$  М. Культивирование эксплантатов скелетных мышц осуществляли при 37°C и 5% CO<sub>2</sub> в течение 72 ч в CO<sub>2</sub>-инкубаторе («Binder»). Через 3 сут культивирования чашки Петри извлекали из CO<sub>2</sub>-инкубатора и исследовали.

Влияние плазмы крови на рост эксплантатов скелетных мышц оценивали с использованием морфометрического критерия индекса площади (ИП), который рассчитывали как отношение площади всего эксплантата к площади центральной зоны. Значение ИП контрольных эксплантатов принимали за 100%. Контрольными служили эксплантаты, развивающиеся в условиях питательной среды стандартного состава.

### Статистическая обработка

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы «Statistica v.10.0» («StatSoft Inc.»). Данные, полученные при помощи ИФА, оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента для двух независимых выборок. При сравнении значений ИП контрольных и экспериментальных эксплантатов ткани скелетной мышцы применяли непараметрический метод статистического анализа (критерий Манна–Уитни). Множественное сравнение проводили с использованием критерия Краскела–Уоллиса.

### Соблюдение этических стандартов

При проведении работы были соблюдены все международные этические стандарты проведения научных исследований с участием людей и с использованием лабораторных животных. Одобрение исследования этическим комитетом, а также утверждение формы и содержания информированного добровольного согласия на участие в исследовании было получено на заседании Локального этического комитета ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова от 22.11.2017.

## Результаты

### Результаты клинической части исследования

Длительность заболевания пациентов на момент осмотра составила 1–10 лет (медиана 3,5 [2,5; 5] года). Медиана возраста дебюта заболевания — 52 [46; 60] года.

В неврологическом обследовании у больных ХВДП были выявлены следующие неврологические синдромы: полиневритический синдром с симметричными двигательными и чувствительными нарушениями в виде нижнего дистального парализа (72%) или дистального тетрапареза (28%) различной степени выраженности; синдром мышечных атрофий (88%), представленный мышечными гипо- или атрофиями, фасцикуляциями, гипорефлексией, мышечной гипотонией; синдром сенситивной атаки (84%). По шкале инвалидизации ODSS INCAT в руках медиана составила 2 [1; 3] балла, в ногах — 3 [2; 5] балла. По шкале невропатических нарушений (Neuropathy Impairment Scale, NIS)

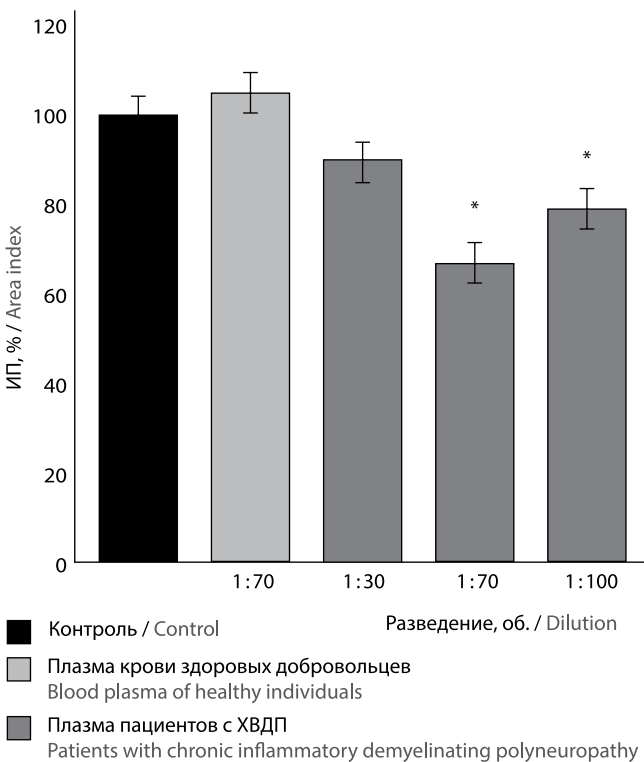
медиана составила 17 [10; 34] баллов. По данным электронейромиографии у всех пациентов были выявлены достоверные электрофизиологические критерии ХВДП [11, 12].

### Лабораторные результаты

Данные ИФА свидетельствуют о том, что уровень антител к никотиновым холинорецепторам в сыворотке крови больных ХВДП (0,47 [0,31; 0,54] нмоль/л) статистически выше, чем в контрольной группе здоровых добровольцев (0,02 [0,01; 0,03] нмоль/л) ( $p = 0,010$ ). Уровень антител к никотиновым холинорецепторам в сыворотке крови группы контроля варьировал в интервале 0–0,09 нмоль/л, в то время как у пациентов с ХВДП — в интервале 0,1–1,8 нмоль/л.

### Результаты экспериментальной части исследования

Изучали влияние плазмы крови больных ХВДП на рост эксплантатов ткани скелетной мышцы. Оценивали влияние плазмы крови в разведениях 1 : 30 об., 1 : 70 об. и 1 : 100 об. Обнаружено, что плазма пациентов в разведении 1 : 30 об. практически не влияла на рост экспериментальных эксплантатов. Плазма пациентов в разведениях 1 : 70 об. и 1 : 100 об. ингибировала рост эксплантатов ткани скелетной мышцы на 27% ( $n = 120$ ;  $p < 0,001$ ) и 21% ( $n = 120$ ;  $p < 0,001$ ) соответственно (рис. 1). Предварительно в аналогичных экспериментальных условиях оценивали влияние плазмы здоровых добровольцев. Плазма крови здоровых добровольцев ни в одном из исследованных разведений

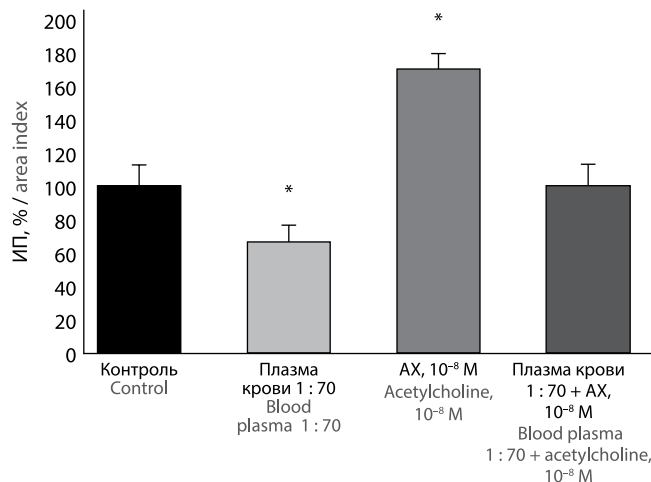


**Рис. 1.** Влияние плазмы крови больных ХВДП на рост эксплантатов ткани скелетной мышцы.

\* $p < 0,001$  по сравнению с контролем.

**Fig. 1.** The effect of blood plasma of patients with CIDP on the growth of skeletal muscle explants.

\* $p < 0,001$  compared with the control group.



**Рис. 2.** АХ в концентрации, сопоставимой с неквантовым выбросом (10<sup>-8</sup> М), нивелирует миотоксический эффект плазмы крови больных ХВДП.

\* $p < 0,001$  по сравнению с контролем.

**Fig. 2.** Acetylcholine concentration equivalent to non-quantal release (10<sup>-8</sup> M) offsets the myotoxic effect of the blood plasma of patients with CIDP.

\* $p < 0,001$  compared with the control group.

на рост эксплантатов ткани скелетной мышцы не влияла.

Для определения возможного вовлечения неквантовой холинергической регуляции в механизмы, препятствующие миотоксическому действию плазмы крови пациентов с ХВДП, эксплантаты скелетной мышцы культивировали в питательной среде, содержащей совместно АХ 10<sup>-8</sup> М и плазму крови больных ХВДП в разведении 1 : 70 об. Предварительно оценивали влияние АХ (10<sup>-8</sup> М) на рост эксплантатов исследуемой ткани. Оказалось, что АХ в дозе 10<sup>-8</sup> М, что соответствует неквантовому выбросу, статистически значимо стимулирует рост эксплантатов ткани скелетной мышцы на 70% ( $n = 120$ ;  $p < 0,001$ ) по сравнению с контрольным значением (рис. 2).

Выявлено, что АХ в дозе, близкой к неквантовому выбросу, нивелирует миотоксический эффект плазмы крови пациентов. ИП экспериментальных эксплантатов значимо не отличался от контрольного значения (рис. 2).

### Обсуждение

Разработанная модель миопатического компонента ХВДП *in vitro* позволяет оценить влияние плазмы крови пациентов с ХВДП на состояние скелетной мышцы в строго контролируемых экспериментальных условиях, исключая системные влияния со стороны организма. Важно отметить высокую степень гомологии никотинового холинорецептора в нервно-мышечном синапсе у модельных животных и человека [13, 14].

В настоящей работе в экспериментальных условиях *in vitro* продемонстрировано, что повреждение мышц при ХВДП может быть обусловлено не только неврогенными изменениями или атрофией от бездействия, но и миотоксическими свойствами плазмы крови. Миотоксический эффект плазмы крови пациентов с установленным диагнозом ХВДП, по-видимому, основан на наличии антител к никотиновым холинорецепторам и нивелируется

АХ в концентрации, сопоставимой с некантовым выбросом. Следует отметить, что более концентрированная плазма (1 : 30 об.) оказывала менее выраженные миотоксические свойства на культивируемую ткань. По-видимому, данное явление обусловлено наличием трофических факторов в плазме крови, частично нивелирующих токсическое действие антител к никотиновым холинорецепторам, однако это явление требует более детального изучения.

Данные, полученные на модели миопатического компонента ХВДП *in vitro*, свидетельствуют о том, что АХ, выделяющийся в некантовом виде, проявляет миопротекторные свойства, препятствуя повреждению скелетной мышцы.

Квантовый выброс АХ реализуется через экзоцитоз, при котором мембрана синаптического пузырька срастается с мембраной нервного окончания с последующим выбросом фиксированного количества молекул (около 10 000) в синаптическую щель [15]. Кванты АХ способны высвободиться из нервной терминали также в состоянии покоя, однако только несколько процентов всего АХ, выделяющегося в покое из двигательного нервного окончания, обусловлены спонтанной квантовой секрецией [16].

Впервые предположение о существовании некантовой секреции АХ было выдвинуто J. Mitchell и соавт., продемонстрировавшими отсутствие корреляции между количеством АХ, высвобождаемого из нервно-мышечного окончания, и частотой возникновения миниатюрных потенциалов концевой пластинки при изменении температуры и концентрации калия в инкубационной среде [4]. Дополнительные эксперименты показали, что в отсутствие нервного возбуждения только небольшая часть АХ выделяется в виде квантов, в то время как основная часть нейромедиатора имеет некантовое происхождение [17].

Предполагается, что некантовый АХ может выполнять трофическую функцию.

После денервации мышцы некантовое высвобождение прекращается намного раньше, чем квантовое. И наоборот, некантовая секреция восстанавливается в ходе реиннервации раньше, чем процесс самопроизвольного квантового высвобождения [18]. Показано, что некантовый АХ является фактором нейрогенеза, необходимым для осуществления перехода от полинейронального характера иннервации на начальных этапах эмбриональной иннервации скелетных мышц к монойрональному [19]. В состоянии покоя часть некантового АХ контролирует поддержание мембранного потенциала постсинаптического звена на должном уровне. Падение мембранного потенциала покоя мышечных волокон — одно из первых постденервационных изменений, и его развитие соответствует тем же временным рамкам, что и снижение интенсивности некантовой утечки АХ [20]. Все вышесказанное свидетельствует в пользу миотрофической функции некантового АХ.

Наличие в плазме крови больных ХВДП антител к никотиновым холинорецепторам позволяет расширить стандарты лабораторной диагностики ХВДП.

В настоящее время базу лечения ХВДП составляет иммуномодулирующая терапия [12]. Полученные нами данные в экспериментальных условиях органотипического культивирования скелетной мышцы в присутствии плазмы крови больных ХВДП демонстрируют миопатические изменения мышечной ткани и позволяют обосновать расширение терапевтического подхода к лечению ХВДП, в основе которого будет лежать не только коррекция иммунопатологических изменений нервов, но и воздействие на мышечное волокно препаратами, модулирующими холинергическую регуляцию. Это позволит улучшить функциональный статус пациентов и уменьшить резидуальные явления в стадии ремиссии.

## Список источников / References

1. Dyck P.J.B., Tracy J.A. History, Diagnosis, and management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Mayo Clin. Proc.* 2018; 93(6): 777–793. DOI: 10.1016/j.mayocp.2018.03.026
2. Gilmore K.J., Kirk E.A., Doherty T.A. Abnormal motor unit firing rates in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J. Neurol. Sci.* 2020; 414: 116859. DOI: 10.1016/j.jns.2020.116859
3. Hokkoku K., Matsukura K., Uchida Y. Quantitative muscle ultrasound is useful for evaluating secondary axonal degeneration in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Brain Behav.* 2017; 7(10): e00812. DOI: 10.1002/brb3.812
4. Markvardsen L.K., Carstens A.K.R., Knak K.L. Muscle strength and aerobic capacity in patients with CIDP one year after participation in an exercise trial. *J. Neuromuscul. Dis.* 2019; 6(1): 93–97. DOI: 10.3233/JND-180344
5. Gilmore K.J., Fanous J., Doherty T.J. Nerve dysfunction leads to muscle morphological abnormalities in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy assessed by MRI. *Clin. Anat.* 2020; 33(1): 77–84. DOI: 10.1002/ca.23473
6. Mitchell J.F., Silver A. The spontaneous release of acetylcholine from the denervated hemidiaphragm of the rat. *J. Physiol.* 1963; 165(1): 117–129. DOI: 10.1113/jphysiol.1963.sp007046
7. Кубасов И.В., Кривой И.И., Лопатина Е.В. Влияние экзогенного ацетилхолина на нервно-мышечную передачу утомляемой диафрагмы крысы. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 1994; 118 (5): 1153–1155.
8. Kubasov I.V., Krivoj I.I., Lopatina E.V. The effect of exogenous acetylcholine on the neuromuscular transmission of the fatigued rat diaphragm. *Bull. Exp. Biol. Med.* 1994; 118 (5): 1153–1155. (In Russ.)
9. Кривой И.И., Кубасов И.В., Лопатина Е.В. Исследование восстановления работоспособности утомляемой диафрагмы крысы после применения экзогенного ацетилхолина. *Физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 1994; 80(9): 61–66.
10. Krivoj I.I., Kubasov I.V., Lopatina E.V. Investigation of the restoration of the working capacity of the fatigued rat diaphragm after the use of exogenous acetylcholine. *Fiziolicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova.* 1994; 80(9): 61–66. (In Russ.)
11. Кривой И.И., Кравцова В.В., Лопатина Е.В. Гиперполярирующий эффект ацетилхолина в скелетной мышце с различным типом мышечных волокон. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии.* 2000; 36(24): 377–379.
12. Krivoj I.I., Kravsova V.V., Lopatina E.V. Hyperpolarizing effect of acetylcholine in skeletal muscle with different types of muscle fibers. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii.* 2000; 36(24): 377–379. (In Russ.)
13. Cisterna B.A., Vargas A.A., Puebla C. Active acetylcholine receptors prevent the atrophy of skeletal muscles and favor reinnervation. *Nat. Commun.* 2020; 11(1): 1073. DOI: 10.1038/s41467-019-14063-8
14. Van den Bergh P.Y.K., Hadden R.D.M., Bouche P., Cornblath D.R. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society guideline on management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society — first revision. *Eur. J. Neurol.* 2010; 17(3): 356–363. DOI: 10.1111/j.1468-1331.2009.02930.x
15. Супонева Н.А., Наумова Е.С., Гнедовская Е.В. Хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия у взрослых: принципы диагностики и терапия первой линии. *Нервно-мышечные болезни.* 2016; 6(1): 44–53.
16. Suponeva N.A., Naumova E.S., Gnedovskaya E.V. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy in adults: diagnostic approaches and first line therapy. *Nervno-myshechnye bolezni.* 2016; 6(1): 44–53. (In Russ.) DOI: 10.17 650/2222-8721-2016-6-1-44-53

13. Dolly J.O., Barnard E.A. Nicotinic acetylcholine receptors: An overview. *Biochem Pharmacol.* 1984; 33(6): 841–858. DOI: 10.1016/0006-2952(84)90437-4
14. Lindstrom J., Criado M., Ratnam M. Using monoclonal antibodies to determine the structures of acetylcholine receptors from electric organs, muscles, and neurons. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1987; 505: 208–225. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1987.t
15. Sudhof T.S. The synaptic vesicle cycle. *Annu. Rev. Neurosci.* 2004; 27: 509–547. DOI: 10.1146/annurev.neuro.26.041002.131412
16. Kuffler S.W., Yoshikami D. The number of transmitter molecules in a quantum: an estimate from iontophoretic application of acetylcholine at the neuromuscular synapse. *J. Physiol.* 1975; 251(2): 465–482. DOI: 10.1113/jphysiol.1975.sp011103

### Информация об авторах

*Гавриченко Артур Владимирович* — врач-невролог Отделения неврологии № 2 клиники НИИ неврологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1286-7192>

*Пасатецкая Наталья Анатольевна* — к.б.н., доцент кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; м.н.с. НМИЦ им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8979-6460>

*Соколова Мария Георгиевна* — д.м.н., доцент кафедры анатомии и физиологии человека и животных ФГБОУ ВО РГПУ им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3829-9971>

*Лопатина Екатерина Валентиновна* — д.б.н., зав. кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; в.н.с. лаб. физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0729-5852>

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

17. Fletcher P., Forrester T. The effect of curare on the release of acetylcholine from mammalian motor nerve terminals and an estimate of quantum content. *J. Physiol.* 1975; 251(1): 131–144. DOI: 10.1113/jphysiol.1975.sp011084
18. Nikolsky E.E., Oranska T.I., Vyskocil F. Non-quantal acetylcholine release in the mouse diaphragm after phrenic nerve crush and during recovery. *Exp. Physiol.* 1996; 81(3): 341–348. DOI: 10.1113/expphysiol.1996.sp003938
19. Vyskocil F., Vrbova G. Non-quantal release of acetylcholine affects polyneuronal innervation on developing rat muscle fibres. *Eur. J. Neurosci.* 1993; 5(12): 1677–1683. DOI: 10.1111/j.1460-9568.1993.tb00235.x
20. Bray J.J., Forrest J.W., Hubbard J.I. Evidence for the role of non-quantal acetylcholine in the maintenance of the membrane potential of rat skeletal muscle. *J. Physiol.* 1982; 326: 285–296. DOI: 10.1113/jphysiol.1982.sp014192

### Information about the authors

*Arthur V. Gavrichenko* — neurologist, First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia; Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1286-7192>

*Natalia A. Pasatetskaya* — Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of normal physiology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia; junior researcher, Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8979-6460>

*Maria G. Sokolova* — D. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of human and animal anatomy and physiology, Herzen State Pedagogical University of Russia, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3829-9971>

*Ekaterina V. Lopatina* — D. Sci. (Biol.), Head, Department of normal physiology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia; leading researcher, Laboratory of physiology of cardiovascular system and lymphology, Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0729-5852>

**Author contribution.** All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.