

УДК 577.352.5

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕКОТОРЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА СИНАПТИЧЕСКУЮ ПЕРЕДАЧУ**З.Х. Хашаев, Л.М. Чайлахян, В.Б. Петряевская,****А.Л. Туманова, Э.М. Шекшеев***Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия
(127994, Россия, г. Москва, Большой Каретный пер., 19, стр.1) edition@rae.ru**Филиал Российского университета дружбы народов, Сочи, Россия
(354348, Россия, Краснодарский край, г. Сочи, ул. Куйбышева, д. 32) pfu@sochi.ru**Институт биохимической физики РАН, Москва, Россия
(117997, Россия, г. Москва, ул. Косыгина, 4) ibcp@sky.chph.ras.ru*

Подробная информация об авторах размещена на сайте

«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

В данной работе сделана попытка изучить механизм действия некоторых анальгезирующих и местных анестезирующих препаратов на нервно-мышечную передачу холоднокровных животных. Были исследованы анальгетики наркотического типа и локальные анестетики. Показано, что все исследованные препараты вызывали уменьшение амплитуды спонтанных биопотенциалов концевой пластинки, что указывает на их постсинаптическое воздействие.

Практическое применение в клинике большого спектра фармакологических препаратов, как природного происхождения, так и синтезированных, требует создания стабильных условий, которые необходимы лечащему врачу при проведении все более усложняющихся ступеней вмешательства человека во взаимодействие среды и живого организма. Неизбежным следствием применения лекарственных препаратов без учета механизма действия на структурно-функциональные свойства мембранных взаимодействий, является развитие побочных реакций, отличающихся по своей природе, тяжести клинических проявлений и скорости нарастания. На одно из первых мест по выбору лечебных средств выдвигается проблема наркомании и токсикомании, привлекающая в последнее время внимание специалистов и общественности всего мира. Широкое применение наркотических и анестезирующих веществ при хирургических вмешательствах, а также в постоперационных периодах требует внимательного отношения к дозировкам, к частоте приема и целесообразности выбора того или иного препарата, с целью исключения привыкания пациента –

основного побочного эффекта, вызываемого ими. С момента открытия морфина в начале XIX столетия наступила эра бездумного применения этого зелья с отягчающими последствиями, принесшего горе миллионам людей. Наряду с совершенствованием лечебных свойств морфина, а именно синтезированием его производных, совершенствовалась и производство новых препаратов.

Со времени внедрения в лечебную практику обезболивающих средств центрального действия, медицинская наука обогатилась многочисленными данными о влиянии этих препаратов на центральную нервную систему, однако действие наркотических и местноанестезирующих средств на периферический рецепторный аппарат еще недостаточно изучено. Первопричиной действия многих лекарственных веществ, является взаимодействие их с макромолекулами возбудимых мембран клеток.

Нервно-мышечное соединение является удобной моделью для изучения влияния фармакологических препаратов, обладающих различным физиологическим действием. С момента открытия спонтанных

миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП), началось детальное изучение в этом направлении. Работы, проведенные на нервно-мышечных соединениях холоднокровных и теплокровных животных показали очень высокую чувствительность концевой пластинки к действию химических препаратов. Впервые на нервно-мышечном соединении изучалось комбинированное взаимодействие фармакологических препаратов по влиянию их на процесс секреции медиатора. С помощью методики внутриклеточного отведения МПКП проводились исследования по выяснению молекулярного механизма действия некоторых представителей фенольных соединений, относящихся к группе разобщителей окислительного фосфорилирования (РОФ), а также некоторых местноанестезирующих алкалоидных препаратов.

Результаты проведенных работ позволяют дать практические рекомендации, связанные с использованием изученных веществ в клинической медицине и биологических исследованиях. Изучение механизма действия анальгетиков наркотического типа на внутриклеточном уровне может облегчить понимание патогенеза наркоманий по стадиям заболеваний, прогнозирование режимов введения лекарств в организм, контроля эффективности и безопасности лекарственных средств.

В качестве исследований на биологических мембранах были использованы нервно-мышечные препараты кожной мышцы (*m. cutaneus pectoris*) лягушки *Rana temporaria*. Внутриклеточное отведение и регистрация МПКП осуществлялось по ранее описанной методике (1). В данной работе приводятся результаты только тех опытов, в которых параметры МПКП измерялись до и после введения фармакологических веществ в раствор, омывающую нервно-мышечный препарат. При измерении параметров МПКП для получения статистически достоверных результатов определяли обычно среднее значение амплитуды для 100 МПКП, а при измерении частоты – время за которое возникало 100 импульсов. Ошибка измерения была не выше 20 % от измеряемой величины. Изменения частоты и амплитуды МПКП в присутствии исследуемых веществ дают

возможность получить сведения о локализации и механизме действия фармакологического препарата в нервно-мышечном соединении.

Со времени введения в лечебную практику обезболивающих препаратов наркотического действия медицинская наука обогатилась многочисленными данными о влиянии этих средств на ЦНС. Существует мнение, что происходит воздействие на синапсы промежуточного мозга, которое ведет к ослаблению передачи импульсов. Однако действие анальгетиков на периферический рецепторный аппарат еще недостаточно изучено. В данной работе сделана попытка изучить механизм действия некоторых анальгетиков, обладающих всеми свойствами морфина в достижении обезболивающего эффекта, но в то же время не вызывающих многих побочных реакций организма, характерных для последнего. Из анальгетиков наркотического типа нами были исследованы следующие препараты: промедол; эстоцин; текодин. Все исследованные анальгетики при введении в окружающий мышцу изотонический раствор Рингера вызывали уменьшение амплитуды МПКП. Полученные данные показали, что изменение параметров МПКП под действием анальгетиков зависит как от химической природы вещества, так и от их концентрации в наружном растворе, а также от времени действия. Так, все три анальгетика, в малых концентрациях дают незначительное уменьшение амплитуды МПКП. При повышении концентрации наблюдается более быстрое уменьшение амплитуды, которая проявляется в таких дозах, при которых текодин и эстоцин дают лишь незначительный эффект. Восстановления первоначальной величины амплитуды МПКП после отмывания раствором Рингера не наблюдали. Частота МПКП под действием исследованных препаратов не менялась. Уменьшение амплитуды МПКП при неизменной частоте говорит о постсинаптическом влиянии этих веществ. По всей видимости, анальгетики взаимодействуют с рецепторами постсинаптической мембраны, в результате чего часть рецепторов оказывается занятой и недоступной для медиатора ацетилхолина (АХ). Возможно, что в основе этого явления лежит конку-

рениция с АХ за активное место в молекуле мышечного рецептора.

Исследовано влияние некоторых местноанестезирующих веществ (норкаин, новокаин, виадрил, тримекаин, лидокаин и его аналоги QX-314 и QX-572). Все они также обладают постсинаптическим действием, о чем свидетельствует уменьшение амплитуды МПКП. Известно, что локальные анестетики (ЛА) вызывают уменьшение возбудимости мышечных инервных волокон. Под влиянием ЛА уменьшается амплитуда потенциалов действия (ПД) при неизменной величине потенциала покоя.

Уменьшение амплитуды МПКП в присутствии норкаина и новокаина наступает в первые же минуты после смены растворов и уже через 30 минут МПКП достигает уровня шума. Более слабым постсинаптическим эффектом обладают тримекаин и лидокаин. В опытах с этими веществами удается проследить характер их воздействия на освобождение медиатора в течение длительного времени (более 1 часа).

В присутствии тримекаина ($1,0 \cdot 10^{-6}$ – $5,0 \cdot 10^{-4}$ М) скорость уменьшения амплитуды МПКП зависит от его концентрации. Так, при концентрации $1,0 \cdot 10^{-5}$ М незначительное уменьшение амплитуды наблюдается после 50 минут. А при увеличении концентрации на порядок, уменьшение амплитуды в 2 раза наблюдается уже через 5 минут и к 30 минутам эксперимента, МПКП полностью исчезают.

Лидокаин в изначальной концентрации $1,0 \cdot 10^{-6}$ М не оказывал никакого влияния на частоту МПКП. Амплитуда также остается без изменения, однако наблюдается незначительный рост средней величины за счет исчезновения МПКП с большей амплитудой и появления потенциалов меньшей величины. При увеличении концентрации лидокаина до $5,5 \cdot 10^{-6}$ М уменьшение амплитуды происходит быстрее. Если принять величины амплитуды МПКП за 1, то в присутствии лидокаина амплитуда уменьшается в 1,5 раза. Причем, такое уменьшение наблюдалось в течение всего опыта (60 минут). Частота МПКП остается без изменения. При концентрациях $3,7 \cdot 10^{-5}$ – $1,0 \cdot 10^{-4}$ М наблюдаются изменения уже через 5 мин – частота уменьшается 2,5 раза и к концу эксперимента значительно уве-

личивается количество МПКП с меньшей амплитудой.

В последнее время некоторые ЛА стали широко применяться при лечении различных нарушений сердечного ритма. Например, лидокаин является наиболее часто применяемым препаратом при остро развивающихся желудочковых аритмиях; используется для предупреждения внезапно возникающих фибрилляций и остановки сердца после инфаркта миокарда. Для избежания побочных явлений, возникающих нередко при использовании лидокаина и увеличения времени действия антиаритмического эффекта в последнее время стали применяться четвертичные аммониевые аналоги тримекаина и лидокаина. Показано, что производные лидокаина – QX-314 и QX-572, также как и лидокаин, в малых концентрациях вызывают незначительное изменение со стороны амплитуды МПКП. При увеличении концентрации QX-572 наблюдается уменьшение амплитуды через 30 минут после добавки почти вдвое от первоначального уровня, а в присутствии QX-314 такие же изменения наступают через 10 минут, но при концентрациях гораздо меньших, чем у лидокаина и QX-572 ($1,0 \cdot 10^{-6}$ М). В присутствии QX-572 в течение 40-50 мин наблюдалось уменьшение частоты МПКП, а затем наступало медленное нарастание частоты на 0,5 порядка с последующим спадом.

Исходя из полученных данных, можно заключить, что все исследованные ЛА обладают двояким способом влияния на нервно-мышечную передачу. Наблюдаемое увеличение частоты МПКП в присутствии некоторых ЛА можно объяснить тем, что они, подобно РОФ (1), способствуют выбросу ионов Ca^{2+} в протоплазму нервного окончания. Блокирующее влияние ЛА на порог возбуждения увеличивается при повышении $[Ca^{2+}]$, в то время как их постсинаптический эффект на амплитуду и скорость развития восходящей фазы ПД ослабляется избытком кальция. Вызываемый новокаином блок усиливается при недостатке Na^+ . Предполагается, что угнетение электровозбудимых элементов развивается вследствие угнетения способности мембраны повышать избирательную проницаемость к ионам натрия (2). Исследования, проведенные на гигантских аксо-

нах кальмара показали, что новокаин угнетает не только натриевый ток, направленный внутрь через мембраны, но также и проницаемость для ионов K^+ (3). По-видимому, угнетающее воздействие ЛА на возбуждаемую мембрану связано с каким-то химическим взаимодействием между ними, причем для этого взаимодействия анестетику необходимо находиться на наружной поверхности мембраны. Показано, что инъекция анестетика внутрь нервного волокна не вызывает угнетения холинорецепторов концевой пластинки. Объясняя механизм действия ЛА надо исходить, прежде всего, из особенностей их химической структуры, физико-химических свойств и, что они представляют собой ионизирующие соединения, влияние которых на мембрану зависит как от наличия свободного основания, так и катиона. Степень ионизации ЛА, обычно представляющих собой третичные амины в водной среде, зависит от их константы ионизации (pK_a) и значения pH среды. Производные новокаина и лидокаина блокируют воротный механизм обращенного внутрь аксона устья натриевого канала. Это происходит благодаря взаимодействию катионной группы (т.е. четвертичного амина) ЛА с анионными рецепторами устья. Диффузия ЛА к внутреннему устью натриевого канала через липидный матрикс мембраны осуществляется благодаря электрически нейтральной третичной аминной группировке ЛА. Анестетики блокируют повышение натриевой проводимости мембран, ведущее к генерации ПД. Среди третичных аминов катионы обладают более высокой активностью, чем нейтральные

формы и незаряженные молекулы. В опытах с фиксацией напряжения на одиночных аксонах обнаружено прямое взаимодействие третичных и четвертичных ЛА с натриевыми каналами. При этом происходит обратимый блок воротного механизма, который регулирует открывание и закрытие канала. ЛА предпочтительно связываются с открытыми натриевыми каналами. Этим объясняется углубление блока проведения при повышении частоты раздражения в присутствии ЛА. Высказано предположение, что ионы Mg^{2+} усиливают блок проведения ЛА в седалищном нерве лягушки. Повышение концентрации ионов Mg^{2+} в бескальциевом растворе Рингера от 3,0 до 20,0 мМ в присутствии ЛА усиливает частотонезависимый блок. Бензокаин (норкаин), лидокаин и его четвертичное производное QX-572 усиливают оба типа проведения суммарного ПД. Увеличение концентрации Mg^{2+} в присутствии ЛА усиливает как частотозависимый, так и частотонезависимый блок, вызываемый QX-572 и лидокаином. Полученные результаты указывают на существование взаимодействия между ионами магния и ЛА в нерве лягушки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глаголева И.М., Либерман Е.А., Хашаев З.Х.-М. Биофизика. – 1970. – Т.15. – №1. – 76.
2. Шаповалов А.И. Клеточные механизмы синаптической передачи. – М., 1966.
3. Ходжкин А. Нервный импульс. – М.: Мир, 1965.

STUDING OF INFLUENCE OF SOME PHARMACOLOGICAL PREPARATIONS ON SYNAPTIC TRANSFER

Z.Kh. Khashaev, L.M. Chailakhyan, V.B. Petryaevskaya, A.L. Tumanova, E.M. Sheksheev
RAS Institute of information transfer problems, Moscow
Branch of Russia university of nations friendship, Sochi
RAS Institute of biochemical physics, Moscow

Proceeding from the received data it is possible to conclude, that all investigated preparations possess double way of influence on nervous-muscular transfer. Increase in frequency of miniature end-plate potentials (m.e.p.p.) speaks that they promote emission of ions Ca^{2+} in protoplasm of the nervous ending. Reduction of amplitude m.e.p.p. speaks that local anaesthetics (LA) block gate mechanism in axon a mouth Na^+ - channel due interaction kation-groups LA with anion receptors of a mouth.