УДК 577.352.5

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСВОБОЖДЕНИЕ МЕДИАТОРА ИЗ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЙ

*Хашаев З.Х.-М., * Чайлахян Л.М.,
* Петряевская В.Б., ** Туманова А.Л., *** Шекшеев Э.М.
** Институт проблем передачи информации РАН, Москва,*
***Филиал Университета дружбы народов, Сочи,*
****Институт биохимической физики РАН, Москва*

Изучалось влияние на синаптическую передачу ряда фармакологических препаратов (соланин, дециламин, декаметоний, морфолин, госсипол, пикриновая кислота), имеющих по своей химической структуре общие характерные функциональные группы, но относящиеся к различным классам соединений. Так как изучение механизма действия исследуемых веществ имеет большое значение для практической медицины и для понимания происходящих процессов в периферической нервной системе, нами была предпринята попытка раскрыть характер их влияния на освобождение медиатора их нервных окончаний грудной мышцы *m. Cutaneus pectoris* травяной лягушки *Rana temporaria*.

Для отведения миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) и их регистрации использовалась ранее описанная методика [1]. Потенциал покоя (ПП) мышечного волокна регистрировался отводящим микроэлектродом. Измерялась частота и амплитуда МПКП. В данной работе приводятся только результаты тех опытов, в которых параметры МПКП измерялись до и после введения фармакологических веществ в раствор, омывающий нервно-мышечный препарат. 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.

Представление о характере действия одного вещества – Соланина, относящегося к группе стероидных гликоалкалоидов весьма противоречива. Сходство структуры Соланина с гликокортикостероидами и сердечными гликозидами явилось основанием для изучения его фармакологического действия. С другой стороны, соланин привлекает экспериментаторов в связи с его тератогенным и токсичным действием на различные организмы. Хлористоводородную соль Соланина в растворе Рингера применяли в опытах при концентрациях 1; 2; 5.10^{-7} М и 5.10^{-6} М. Полученные данные показывают, что Соланин в концентрациях 1 и 2.10^{-7} М не оказывает никакого влияния на параметры МПКП. С увеличением концентрации до 5.10^{-7} М наблюдается небольшое повышение частоты МПКП в 1,5-2 раза, которое через 10 минут после смены растворов понижается до нормальной величины и остается такой в течение всего опыта. При повышении концентрации Соланина на порядок наблюдается резкое уменьшение амплитуды МПКП, тогда как их частота остается без изменений. Исходя из этих данных, можно предположить, что присутствие Соланина в окружающем нервно - мышечный препарат лягушки раствора не препятствуют освобождению порций медиатора из пресинаптическх окончаний нервного волокна, но уменьшает, по-видимому, количество молекул ацетилхолина в этих квантах.

Из описанных ранее данных [2] следует, что такие вещества, как разобщители окислительного фосфорилирования (РОФ), при введении в окружающий нервно-мышечный препарат раствор Рингера вызывают резкое повышение частоты МПКП. При изучении механизма действия Дециламина (ДА) были получены данные, показывающие влияние на параметры МПКП РОФ и ДА. Однако, по характеру действия имеются существенные различия. Во-первых, РОФ увеличивают частоту МПКП не сразу после смены растворов, а через определенный латентный период. Во-вторых, в присутствии РОФ по мере нарастания частоты МПКП увеличивается и их амплитуда. В случае же с ДА наблюдается обратное явление – по мере увеличения частоты МПКП происходит резкое уменьшение их амплитуды и через небольшой промежуток времени наблюдается исчезновение МПКП. Такая же картина наблюдается в опытах и в бескальциевых растворах. При концентрации $1,0.10^{-5}$ М ДА не оказывает никакого влияния. При повышении концен-

трации на один порядок частота МПКП увеличивается в 15-20 раз. Наблюдается резкое угнетение амплитуды МПКП, в виду чего была предпринята попытка пролонгирования ДА в смеси с Эзерином, способного в течение длительного времени сохранять величину амплитуды МПКП. Смесь растворов ДА и Эзерина (ДЭ) использовалась в концентрациях от 1,0 до $5{,}0.10^{-5}$ М в нормальном растворе Рингера и $3{,}0.10^{-5}$ М в бескальциевой среде. ДЭ в концентрации $1{,}0.10^{-5}$ М увеличивает частоту МПКП в 2 раза и на столько же уменьшает их амплитуду. Такой эффект продолжается в течение длительного времени. В 5 раз частота увеличивается уже в первые минуты после добавки, а при увеличении концентрации смеси до $5{,}0.10^{-5}$ М частота МПКП увеличивается почти на один порядок. В бескальциевой среде ($3{,}0.10^{-5}$ М) ДЭ уже в первую минуту увеличивает частоту МПКП с одновременным уменьшением амплитуды до уровня шума.

Пикриновая кислота (ПК) по эффективности действия на параметры МПКП занимает в ряду исследованных РОФ последнее место и относится поэтому условно к “слабым” разобщителям. Но в отличие от “сильных” РОФ ПК проявляет свое действие на частоту МПКП почти сразу же после смены растворов, но в концентрациях гораздо больших, чем $1{,}0.10^{-2}$ М. Смесь ДА с ПК (ПКДА) в малых концентрациях, так же как и ДА без примеси не влияет на частоту МПКП. Увеличение частоты МПКП в смеси наблюдается при концентрации $5{,}0.10^{-5}$ М. Здесь так же, как и в опытах с ДА без примеси и в ДЭ наблюдается уменьшение величины амплитуды МПКП. Сравнивая эффект повышения частоты МПКП в растворах ПКДА и в ДЭ, можно предположить, что ДА подобно РОФ способствует выбросу ионов Ca^{2+} из митохондрий и саркоплазматического ретикулума. Уменьшение величины амплитуды МПКП объясняется, по-видимому, постсинаптическим свойством действия ДА.

Один из синтетических заменителей кураре – Декаметоний (ДКМ), стойко деполяризует концевые пластинки и мышечные мембраны. По влиянию на нервно-мышечную передачу ДКМ в несколько раз превосходит α-тубокурарин. В практической медицине ДКМ применяется для расслабления скелетной мускулатуры. В опытах были использованы растворы ДКМ в концентрациях от $2{,}0.10^{-7}$ М до $2{,}0.10^{-4}$ М. Показано, что степень повышения частоты МПКП зависит от времени действия вещества. Амплитуда МПКП при малых концентрациях (2,7 и $5{,}0.10^{-7}$ М) не меняется. При увеличении концентрации на 1,5-2 порядка, уже в первые же минуты после смены растворов наблюдается уменьшение амплитуды МПКП вдвое, хотя частота при этом значительно выше, чем в растворе Рингера. Такая картина наблюдается в течение короткого времени, а затем МПКП полностью исчезают. Величина ПП при этом падает с 65 до 5 мВ. В этих условиях наступало блокирование нервно-мышечной передачи. После отмывания раствором Рингера наблюдалось восстановление параметров МПКП. Из полученных данных следует, что высокие концентрации ДКМ реагируют, по-видимому, подбно кураре, с рецепторами постсинаптической мембраны, в результате чего выделившийся медиатор не может с ними взаимодействовать. Предполагается, что холинорецепторы поперечно-полосатых мышц заняты ионами Ca^{2+} или Mg^{2} и, что ДКМ взаимодействует с рецепторами путем вытеснения ионов [3]. Высказано предположение, что молекула ДКМ (в своей химической структуре) одним концом взаимодействует с активным центром рецептора, другим – с дополнительным анионным участком и при этом он может вытеснять два иона.

Яд из семян хлопчатника – Госсипол, относящийся по своей химической структуре к группе фенолов, был раннее изучен в нашей лаборатории на искусственных бимолекулярных фосфолипидных мембранах [4]. В опытах на нервно-мышечных препаратах Госсипол был использован нами в концентрациях равных: 1,0; 2,0 и $5{,}0.10^{-5}$ М. Исходные растворы готовились из сухого порошка в концентрации $1{,}0.10^{-2}$ М и далее разводились до нужной концентрации раствором Рингера. Под действием Госсипола также наблюдалось увеличение частоты МПКП с одновременным уменьшением их амплитуды, но в отличие от действия ДА это уменьшение наблюдалось в первые же минуты после добавления Госсипола в раствор. Время действия Госсипола на частоту МПКП исчислялось от одной до 25 минут при концентрации $1{,}0.10^{-5}$ М и до 5 мин при концентрациях равных $2{,}0\text{-}5{,}0.10^{-5}$ М. Такое действие Госсипола, когда частота МПКП увеличивается лишь в 10 раз, а амплитуда уменьшается до уровня ниже нормального, объясняется, по-видимому, непосредственным его воздействием на постсинаптическую мембрану.

Особое место в ряду исследованных нами фармакологических препаратов занимает стероидный анестетик – Виадрил, применяющийся при неингаляционном наркозе и действующий преимущественно на ЦНС. Однако, механизм его действия на периферический рецепторный аппарат еще недостаточно изучен, что и дало нам основание использовать этот препарат в наших опытах. Виадрил применялся в концентрациях равных $1{,}0.10^{-3}$ и $3{,}0.10^{-3}$; $1{,}0.10^{-2}$ и $3{,}0.10^{-2}$ мг/мл. Рабочие растворы Виадрила готовились из исходного раствора Виадрила “Г” бельгийской

фирмы “Pfizer” и доводились до нужной концентрации раствором Рингера. pH растворов не превышал 7,5-7,6.

Виадрил при концентрациях $1{,}0.10^{-3}$ и $3{,}0.10^{-3}$ мг/мл не оказывал влияния на параметры МПКП. При увеличении концентрации на один порядок также не наблюдается изменений со стороны частоты МПКП, однако становится заметным, хоть и незначительное, уменьшение их амплитуды. Через 5 минут после замены раствора Рингера на раствор Виадрила в концентрации $1{,}0.10^{-2}$ мг/мл наблюдается исчезновение миниатюрных потенциалов с амплитудой равной 1,1 – 1,7 мВ и появление большого количества МПКП, амплитуда которых равна 0,7-1,0 мВ. В дальнейшем, в продолжении всего опыта такое изменение стабилизируется и заметных сдвигов от полученной картины не наблюдается. Наиболее заметное изменение удалось получить при увеличении концентрации Виадрила до $3{,}0.10^{-2}$ мг/мл. В этой концентрации Виадрил уже в первые пять минут после смены растворов, увеличивают частоту МПКП в несколько раз. Интересно отметить, что в период “стабилизации” (примерно через 30-40 минут после смены растворов) наблюдается появление отдельных, так называемых “гигантских” МПКП, амплитуда которых в данном случае достигала до 1,8 мВ.

Исходя из полученных данных, можно заключить, что Виадрил обладает двояким способом влияния на нервно-мышечную передачу. Наблюдаемое увеличение частоты МПКП объясняется, по-видимому тем, что Виадрил способствует выбросу ионов Ca^{2+} в протоплазму нервного окончания, а последующий спад частоты можно объяснить уменьшением количества синаптических пузырьков, содержащих порции медиатора. Появление новых классов МПКП с меньшей величиной амплитуды, по-видимому, связано с тем, что Виадрил так же, как Декаметоний и Госсипол, вступает во взаимодействие с рецепторами постсинаптической мембраны и это взаимдействие приводит к блокированию части рецепторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хашаев З.Х.-М., Трошко Е.В. Мат. ВИНИТИ № 1147-84, М., 1984.

2. Глаголева И.М., Либерман Е.А., Хашаев З.Х.-М., “Биофизика”, 15, 1, 83, 1970.

3. Taylor Dermot B. J. Pharmacol. & Exp. Ther., 186, 3, 1973.

4. Касумов Х.С., Либерман Е.А., Проневич Л.А., Ревин А.Ф. Мат. Симп.“Биофизика мембран”, Паланга, с. 117, 1969.

STUDY OF THE INFLUENCE OF SOME MEDICAL DRUGS ON THE RELEASE OF MEDIATOR NERVE ENDINGS

*Khashaev Z.Kh.-M., *Chailakhyan L.M., *Petrjaevskaja V.B., **Tumanova A.L., ***Schekscheev E.M.

** The institute of the data transfer rproblems of RAS, Moscow*

*** The Branch of the Peoples’ Friendship university, Sochi*

****The institute of biochemical physics of RAS, Moscow*

Influence on synaptic transmission of some pharmacological was studied preparations having on the chemical structurethe general (common) characteristic functional groups, but concerning to variousto classes of connections. As study of the mechanism of action researched substances is of great importance for applied medicine and for understanding of occuring processes in peripheral nervous to system, we had been undertook attempt to open character of their influence on clearing mediator their nerve endings of a chest muscle *m. cutaneus pectoris* on the frog *Rana temporaria.*