

Ю. Я. ИВАНОВ

**О РОЛИ СУБСТРАТНОГО ТОРМОЖЕНИЯ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ
МИОНЕВРАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В МЕХАНИЗМЕ
БЛОКИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НЕОБРАТИМЫХ ИНГИБИТОРОВ
ХОЛИНЭСТЕРАЗ НА НЕРВНО-МЫШЕЧНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ**

(Представлено академиком М. И. Кабачником 11 V 1971)

Известно, что ингибиторы холинэстераз (ХЭ) нарушают нервно-мышечное проведение. Наиболее обоснованным представляется объяснение этого явления торможением ацетилхолинэстеразы (АХЭ) мионевральных синапсов этими веществами (^{1, 2}). Фосфорорганические ингибиторы тормозят ХЭ практически необратимо. Между тем нарушенное ими нервно-мышечное проведение восстанавливается. Например, при действии необратимого ингибитора ХЭ — армина уже через 40—50 мин. восстанавливается проведение одиночных импульсов, а через 2—3 часа мышца уже удерживает тетанус до 30 гц (³).

В холинэргических синапсах торможение АХЭ ингибиторов происходит в присутствии медиаторного ацетилхолина (АХ), который в этих условиях может накапливаться в синапсах, по-видимому, в высоких концентрациях. В таких концентрациях АХ может защищать АХЭ от действия необратимых ингибиторов. Это свойство АХ было показано не только *in vitro* (⁴⁻⁶), но и в опытах на изолированном френико-диафрагмальном препарате крысы: торможение ХЭ мышцы диизопропилфторфосфатом (ДФФ) уменьшалось, когда одновременно с ингибитором в ванночку с функционирующим препаратом добавлялся «фармакологический» АХ (⁷).

Цель данной работы состояла в том, чтобы выяснить возможное влияние «физиологического» (медиаторного) АХ на торможение синаптического фермента необратимым ингибитором ХЭ — армином. Мы сравнивали действие ингибитора на тетанизируемую непрямым раздражением и контрольную (нераздражаемую) мышцу. Выделение нервными окончаниями АХ за единицу времени возрастает при увеличении (до определенных пределов) частоты раздражения нерва. Предполагалось, что частое раздражение двигательного нерва, начатое в момент введения животному ингибитора, ускорит накопление АХ в нервно-мышечных синапсах и что при таком форсированном накоплении АХ его защитное действие, если оно имеет место, может оказаться более выраженным.

Опыты проводились на атропинизированных (7 мг/кг внутримышечно) кошках под наркозом (хлоралоза 50 мг/кг и уретан 500 мг/кг внутривенно), в условиях искусственного дыхания. На движущемся барабане кимографа регистрировались сокращения двух (правой и левой) переднеберцовых мышц в ответ на раздражение периферических отрезков правого и левого общих малоберцовых нервов прямоугольными супрамаксимальными импульсами длительностью 0,5 мсек. Армин (0,75 мг/кг) вводился в наружную яремную вену. В серии предварительных опытов нами было показано, что почти весь реакционноспособный армин, введенный в вену кошки из расчета 0,75 мг/кг, исчезает из крови через 8—10 мин. Поэтому представлялось целесообразным тетанизировать мышцу все время, пока армин находится в крови.

Тетанизация (50 или 100 гц) одной из мышц начиналась одновременно с введением армина и продолжалась 10 мин. В течение этого времени нерв другой мышцы совсем не раздражался. Через 25—35 сек. после вве-

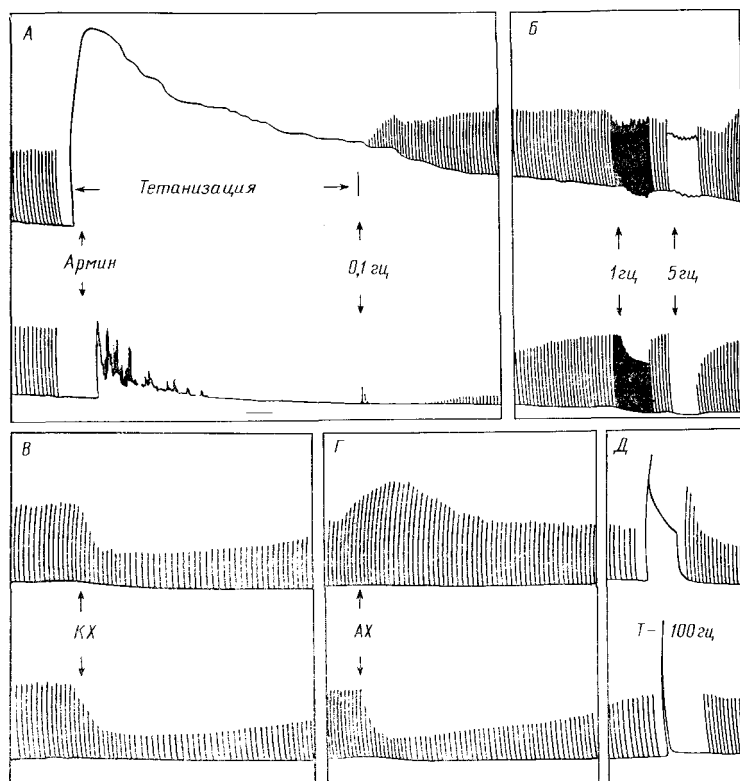


Рис. 1. Влияние тетанизации двигательного нерва мышцы кошки на блокирующий эффект армина. Отметка времени 1 мин. Начало каждой (Б, В, Г и Д) записи — через 15 мин. после конца предыдущей. А — первые 10 мин. после введения армина: одна мышца тетанизируется (верхняя кривая), другая (контрольная) — не раздражается (нижняя кривая), а затем обе раздражаются редкими одиночными импульсами; Б — проведение редких импульсов восстановилось и на контрольном нервно-мышечном препарате, однако более частые импульсы еще не проводятся (внизу), а на тетанизированной — проводятся (сверху); В — карбахолин (КХ) внутривенно; Г — ацетилхолин (АХ) внутривенно; Д — тетанизация с частотой 100 гц

дения армина наблюдались фасцикуляции нераздражаемой мышцы, продолжавшиеся 3—5 мин. Сразу после прекращения тетанизации оба нерва раздражались редкими (0,1 гц) одиночными импульсами. Проведение этих импульсов на стороне тетанизации начинало восстанавливаться уже через 0,5—3 мин., а на контрольной стороне только через 15—20 мин. (рис. 1А). Проведение более частых (1 в тек., 5 в сек.) импульсов (рис. 1Б) и способность мышцы удерживать тетанус (рис. 1Д) также раньше восстанавливались на стороне тетанизации.

Для сравнения активности синаптической АХЭ опытной и контрольной мышц мы использовали метод сопоставления блокирующей нервно-мышечное проведение активности АХ и карбахолина (КХ) — препарата, который не разрушается ХЭ⁽⁸⁾. АХ и КХ вводили в наружную яремную вену. У животных до введения армина дозы, снижавшие высоту сокращений в два раза (ED_{50}), составляли для АХ 50 $\mu\text{мол/кг}$, а для КХ 0,5 $\mu\text{мол/кг}$. Этот эффект был одинаково выражен на обеих мышцах. После отравления животных армином ED_{50} для АХ уменьшалась раз в 500, а ED_{50} для КХ не изменялась (ED_{50} определялись после восстановления обеими мышцами одиночных сокращений). В этом периоде КХ, как и до введения армина, оказывал одинаковое блокирующее действие на обе мышцы (рис. 1В). Между тем, блокирующее действие АХ было всегда выражено слабее на

той мышце, которая тетанизировалась при введении армина (рис. 1Г). Это указывает на более высокую активность синаптической АХЭ тетанизированной мышцы. Такое действие тетанизации можно объяснить более выраженной защитной синаптической АХЭ медиаторным АХ, который накапливался в синапсах тетанизируемой мышцы быстрее, чем в синапсах контрольной мышцы. Если же тетанизация проводилась через 10—15 мин. после введения армина, то эффект тетанизации был выражен гораздо слабее.

Понятно, что если при быстром накоплении в синапсах медиаторного АХ его защитное действие усиливается, при полном отсутствии АХ в синапсах торможение синаптической АХЭ ингибитором, наоборот, должно быть максимально глубоким. Сонессон и Теслеф в опытах на крысах показали⁽⁹⁾, что после воздействий, уменьшающих выделение нервными окончаниями АХ (хронической денервации мышц или обработки их токсином ботулинуса), ДФФ тормозит ХЭ нервно-мышечных синапсов значительно сильнее, чем у интактных животных.

Защита медиаторным АХ синаптической АХЭ от необратимого торможения ингибиторами, по-видимому, имеет существенное значение в спонтанном восстановлении нервно-мышечного проведения, нарушенного необратимыми ингибиторами ХЭ. Избыток АХ в синапсах может не только защищать часть синаптической АХЭ, но и тормозить ее активность. Можно себе представить, что блокада нервно-мышечного проведения всегда обеспечивается неоднородным торможением синаптической АХЭ: часть синаптической АХЭ тормозится ингибитором, а другая часть — ацетилхолином (субстратное торможение). Тогда спонтанное восстановление нервно-мышечного проведения легко понять как результат реактивации той части синаптической АХЭ, которая была заторможена субстратом. Даже если в состоянии субстратного торможения находилась лишь небольшая часть синаптической АХЭ, ее реактивация, по-видимому, может значительно улучшить функцию синапса. Так, например, было показано, что для восстановления проводимости синапсов изолированной диафрагмы крысы, нарушенной ДФФ, в определенных условиях достаточно реактивации ХЭ мышцы всего на несколько процентов⁽⁷⁾. Биохимическими методами не удается обнаружить восстановления активности АХЭ мышц после действия необратимых ингибиторов в тот период, когда функция синапсов этих мышц уже частично восстановилась^(10, 11). Это понятно. Дело не только в том, что активность АХЭ может при этом восстанавливаться всего лишь на несколько процентов. В тканях живого организма биохимическими методами, по-видимому, вообще невозможно обнаружить субстратное торможение АХЭ. Приготовление гомогената неизбежно связано с разведением ткани, при котором концентрация «физиологического» АХ спадает во много раз и субстратное торможение АХЭ исчезает, после чего этот АХ может гидролизаться ХЭ гомогената. Биохимическими методами, по-видимому, определялось^(10, 11) только необратимое (фосфорорганическими ингибиторами) торможение ХЭ, а субстратное торможение АХЭ, имевшее место *in vivo*, не улавливалось.

Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И. М. Сеченова
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
5 V 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Cholinesterases and Anticholinesterase Agents, G. B. Koelle (Ed.), Handb. d. exp. Pharmakologie, 15, Berlin, 1963. ² М. Я. Михельсон, Э. В. Зеймаль, Ацетилхолин, Л., 1970. ³ А. Ф. Данилов, Докторская диссертация, Инст. физиол. им. И. П. Павлова АН СССР, 1968. ⁴ K. B. Augustinsson, D. Nachmansohn, J. Biol. Chem., 179, 2, 543 (1949). ⁵ A. S. V. Burgen, Brit. J. Pharmacol., 4, 3, 219 (1949). ⁶ W. N. Aldridge, Biochem. J., 46, 4, 451 (1950). ⁷ J. A. B. Virstad, Arch. Int. Pharmacodyn. Therap., 128, 1—2, 143 (1960). ⁸ А. Ф. Данилов, Фармакол. и токсикол., 30, 6, 664 (1967). ⁹ B. Sonesson, S. Thesleff, Life Sci., 7, 1, 411 (1968). ¹⁰ W. K. Berry, C. L. Evans, J. Physiol. (London), 115, 2, 46 (1951). ¹¹ J. M. Barnes, J. I. Duff, Brit. J. Pharmacol., 8, 3, 334 (1953).