

УДК 615.4+615.785.4

БИОХИМИЯ

А. И. СКЛЯРОВ

**ПРЕСИНАПТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКОГО
ИНГИБИТОРА ХОЛИНЭСТЕРАЗ АРМИНА
НА НЕРВНО-МЫШЕЧНЫЙ СИНАПС ПОРТНЯЖНОЙ МЫШЦЫ
ЛЯГУШКИ**

(Представлено академиком Е. М. Крепсом 4 VII 1975)

Известно, что фосфорорганические ингибиторы, необратимо блокирующие холинэстеразы, в больших концентрациях нарушают нервно-мышечное проведение (¹). В частности, это было показано для армина (О-этил-О-парапнитрофениловый эфир этилфосфиновой кислоты), который в высоких концентрациях блокирует проведение одиночных импульсов с нерва на скелетную мышцу лягушки (^{2, 3}). Блокада нервно-мышечного проведения под действием антихолинэстеразных веществ может зависеть не только от торможения гидролиза синаптического ацетилхолина, но и от пресинаптического действия этих веществ (⁴⁻⁶).

Мы исследовали механизм блокирующего действия антихолинэстеразных веществ на примере армина.

Опыты проводились в осенне-зимний период на нервно-мышечном препарате портняжная мышца — седалищный нерв травяной лягушки с использованием стандартной микроэлектродной методики (⁷). Армин добавлялся в перфузирующий раствор следующего состава (в мМ) (⁸): NaCl 113; KCl 2; NaHCO₃ 2,5; CaCl₂ 0,3; MgCl₂ 1—3. Количество ионов магния подбиралось таким образом, чтобы получить средний квантовый состав потенциалов концевой пластинки (п.к.п.) в пределах 0,5—1,0. Перед опытом препараты выдерживались в этом растворе не менее часа.

Как показали контрольные опыты, на пресинаптические структуры влияли свет от лампы бинокулярного микроскопа и изменения скорости перфузирующего раствора, поэтому регистрация проводилась без освещения и, по возможности, с постоянной скоростью перфузии. Кроме того, на результаты измерений сильно влияли относительные изменения температуры, поэтому в процессе опыта температуру поддерживали с точностью $\pm 0,5^\circ$ с помощью полупроводниковых элементов Пельтье. Влияние абсолютных значений температуры, колебавшейся от опыта к опыту в пределах 19—20°, не учитывали.

Для оценки пресинаптического действия армина исследовали его влияние на частоту миниатюрных потенциалов концевой пластинки (м.п.к.п.) и квантовый состав п.к.п. Частота м.п.к.п. определялась электронным счетчиком по количеству м.п.к.п. за 500 сек. Нерв раздражали обычным способом (⁷) с интервалом в 1 сек. Средний за 500 стимулов квантовый состав п.к.п. определяли из числа нулевых реакций (⁸), которое подсчитывали электронным счетчиком с дополнительной схемой из источника напряжения и фоторезистора, укрепленного на экране осциллоскопа таким образом, чтобы регистрировать в форме электрического импульса пробег луча осциллоскопа в случае пулевой реакции. В случае возникновения п.к.п. луч огибал фоторезистор, не вызывая его засветки. Для уменьшения

влияния продолжительной стимуляции измерение числа нулевых реакций чередовали с измерением частоты м.п.к.п. через 100 стимулов.

Стандартную ошибку измерений определяли с учетом коэффициентов Стьюдента для величины надежности 0,95 ⁽⁹⁾. С каждой концентрацией армина было проведено 5 опытов. Результаты измерений концентрации армина и время воздействия указаны в табл. 1.

Как видно из табл. 1, начиная с концентрации $2 \cdot 10^{-6}$ М и выше армин проявлял пресинаптическое действие, уменьшая частоту м.п.к.п. и квантовый состав п.к.п. Этот эффект усиливался с увеличением времени воздействия и концентрации армина. При отмывании армина наблюдалось увеличение квантового состава п.к.п. и частоты м.п.к.п. Восстановление было тем полнее, чем меньше были концентрация армина и время воздействия.

Таблица 1

Действие армина на квантовый состав п.к.п. и частоту м.п.к.п. (в % к контролю $\pm$ стандартная ошибка) *

Воздействие	Время, мин.	Концентрация армина							
		$2 \cdot 10^{-7}$ М		$1 \cdot 10^{-6}$ М		$2 \cdot 10^{-6}$ М		$2 \cdot 10^{-4}$ М	
		кванто- вый состав	частота	кванто- вый состав	частота	кванто- вый состав	частота	кванто- вый состав	частота
Армин	30—60	92 $\pm$ 12	92 $\pm$ 16	103 $\pm$ 12	95 $\pm$ 20	71 $\pm$ 14	81 $\pm$ 15	31 $\pm$ 4	23 $\pm$ 6
	90—120	101 $\pm$ 14	97 $\pm$ 12	96 $\pm$ 13	93 $\pm$ 16	93 $\pm$ 16	55 $\pm$ 11	10 $\pm$ 3	6 $\pm$ 2
Отмывание	150—180	98 $\pm$ 14	96 $\pm$ 13	90 $\pm$ 11	88 $\pm$ 17	44 $\pm$ 8	35 $\pm$ 13	—	—
	30—60	93 $\pm$ 16	102 $\pm$ 21	93 $\pm$ 14	101 $\pm$ 17	65 $\pm$ 11	32 $\pm$ 8	33 $\pm$ 9	39 $\pm$ 5
	90—120	95 $\pm$ 15	101 $\pm$ 12	96 $\pm$ 16	99 $\pm$ 17	75 $\pm$ 13	63 $\pm$ 12	43 $\pm$ 7	54 $\pm$ 12

* Каждая цифра—среднее из 5 опытов.

При действии армина во всех исследованных концентрациях хорошо выражен антихолинэстеразный эффект этого вещества, проявлявшийся в удлинении временного хода п.к.п. и м.п.к.п., наступавший раньше пресинаптического эффекта и не исчезающий после отмывания армина.

При действии более 2 час. армина в концентрации $2 \cdot 10^{-4}$ М наблюдались, кроме того, следующие эффекты: деполяризация мышечной мембраны на 10 ± 2 мв и исчезновение п.к.п. у некоторых препаратов из-за увеличения порога возбуждения нерва, так как для возникновения п.к.п. в этих случаях требовалось увеличить в 20—50 раз амплитуду импульса, раздражавшего нерв. У некоторых препаратов сниженная частота м.п.к.п. снова сильно (в 50—100 раз) увеличивалась, что может быть связано с деполяризацией пресинаптической мембраны ⁽¹⁰⁾. Все эти эффекты исчезали при отмывании.

Таким образом, при действии армина на нервно-мышечный синапс портняжной мышцы лягушки наблюдались следующие эффекты. 1. Армин в концентрации $2 \cdot 10^{-7}$ М и выше удлинял временной ход п.к.п. и м.п.к.п. вследствие антихолинэстеразного эффекта. При отмывании этот эффект был необратим. 2. Армин в концентрации $2 \cdot 10^{-6}$ М и выше вызывал уменьшение частоты м.п.к.п. и квантового состава п.к.п. тем сильнее, чем больше были концентрация и время воздействия. 3. При отмывании армина наблюдалось увеличение частоты м.п.к.п. и квантового состава п.к.п. Восстановление было тем полнее, чем меньше были концентрация и время воздействия.

Армин в концентрации $2 \cdot 10^{-4}$ М при действии более 2 час. вызывал, кроме того, следующие эффекты, исчезающие при отмывании: 1) деполя-

ризацию мышечной мембраны на 10 ± 2 мв; 2) увеличение порога возбуждения нерва у некоторых препаратов; 3) у некоторых препаратов сниженная частота м.п.к.п. снова сильно (в 50—100 раз) увеличивалась, что может быть связано с деполяризацией пресинаптической мембраны.

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

Поступило
25 VI 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ L. S. Goodman, A. Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 3 Ed., 1963. ² А. Ф. Данилов, Е. К. Рожкова, В кн.: Гигиена и токсикология пестицидов и клиника отравления, Киев, 1965. ³ Н. Я. Лукомская, Е. К. Рожкова, В кн.: Влияние токсических и лекарственных веществ на функцию холинэргических структур, Л., 1970. ⁴ J. A. Boyd, A. R. Martin, J. Physiol., v. 132, 61 (1956). ⁵ P. Fatt, B. Katz, J. Physiol., v. 117, 109 (1952). ⁶ R. F. Carlile, Brit. J. Pharmacol., v. 21, 137 (1963). ⁷ P. Fatt, B. Katz, J. Physiol., v. 115, 320 (1951). ⁸ J. del Castillo, B. Katz, J. Physiol., v. 124, 560 (1954). ⁹ Г. Ф. Лакин, Биометрия, М., 1973. ¹⁰ J. del Castillo, B. Katz, J. Physiol., v. 124, 586 (1954).