ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՌ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱՅԻ ՏԵՂԵԿԱԳԻՐ
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

Բիոլոգիական գիտ. XVI, № 10, 1963 Биологические науки

М. Г. АМАДЯН

ВЛИЯНИЕ ГАНГЛЕРОНА И АРПЕНАЛА НА АКТИВНОСТЬ ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В ОТДЕЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ОБРАЗОВАНИЯХ КОЖНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА И ГИПОТАЛАМУСА КРОЛИКОВ

Введение в медицинскую практику новых лекарственных веществ требует предварительного широкого изучения спектра их действия в экспериментальных условиях. В настоящее время в практической медицине используются ганглерон и арпенал—новые холинолитические препараты, синтезированные в институте тонкой органической химии АН Армянской ССР под руководством акад. АН АрмССР А. Л. Мнджояна.

Ганглерон (хлоргидрат α,β- диметил -γ- диэтиламинопропилового эфира п-изобутокси бензойной кислоты) обладает высокой никотинолитической активностью. Он действует на холинореактивные группы в центральной и вегетативной нервной системе и имеет также противосудорожное и спазмолитическое влияние [2].

Арпенал (хлоргидрат диэтиламинопропиламида дифенил уксусной кислоты), в отличие от ганглерона, характеризуется еще более выраженными никотинолитическими свойствами и наличием мускаринолитических свойств, особенно по отношению к центральным холинорецепторам. Он оказывает также противосудорожное и спазмолитическое действие [7].

Из фармакологических исследований известно, что холинолитические препараты являются антагонистами по отношению к центральному действию антихолинэстеразных и холиномиметических веществ (никотин и ареколин). Они блокируют холинореактивные системы синапсов, нарушая передачу нервных импульсов и подавляя чувствительность холинорецепторов к введенному извне ацетилхолину [3].

В биохимической литературе мы не нашли данных о действии ганглерона и арпенала на активность холинэстеразы нервной ткани. Вместе с тем работами, проведенными в институте тонкой органической химии АН Арм.ССР (данные С. Т. Цовьяновой) выявлено, что эти препараты способны тормозить ложную холинэстеразу крови человека (неопубликованные материалы).

Показано, что ганглерон как по химическому строению, так и по фармакологическому действию, частично напоминает новокаин [1]. В работе В. А. Бабичева [5] в опытах in vitro установлено, что новокаин обнаруживает антихолинэстеразное действие на ткань мозга лягушки.

* Сообщение 1-ое.

Исходя из приведенных данных, в настоящем исследовании была поставлена задача сопоставить влияние ганглерона и арпенала и типичного ингибитора холинэстеразы—эзерина на активность холинэстеразы в отдельных клеточных образованиях кожно-двигательного анализатора и гипоталамуса. Выбор таких объектов исследования был продиктован литературными данными об эффективном применении ганглерона и арпенала в клинике при различных нарушениях двигательных и вегетативных функций [4,6].

Исследовались следующие звенья кожно-двигательного анализатора кролика: корковый конец анализатора, вентролатеральные ядра зрительного бугра, ядра Голля и Бурдаха продолговатого мозга и межпозвоночные узлы. Также исследован гипоталамус, раздельно его передние и задние отделы, как высший вегетативный центр.

Материал для исследования брали по картам Розе [19], Винклера и Петтера [20]. Работа проведена на 52 половозрелых кроликах-самках и самцах весом 2,8—5,0 кг.

Активность холинэстеразы определялась колориметрически по методу Хестрина [17] в модификации Бонтинга [11]. Активность холинэстеразы контрольных животных выражалась в микромолях (μM) ацетилхолина, расщепленного граммом ткани в 1 час.

Активность холинэстеразы в опытных пробах выражалась в процентах от активности в контрольных пробах, принятых за 100%.

Ганглерон и арпенал использованы в следующих дозах: 2 мг/кг (терапевтическая, полностью предупреждающая возникновение никотиновых судорог), 5 мг/кг (субтоксическая) и 7 мг/кг (токсическая). Эзерин применялся в дозе 0,05 мг/кг. Ганглерон и арпенал, использованные в опытах, были получены из ИТОХ АН Арм. ССР.

Препарат вводился кролику в ушную вену, забивали его через 30 мин. (в этот период клиническое действие препаратов было наиболее выраженным). После введения ганглерона и арпенала в дозах 2 мг/кг у животного наблюдалось учащенное дыхание. При субтоксических дозах дыхание было затруднено, становилось глубоким с кратковременными остановками. При терапевтических и субтоксических дозах отмечалось слюнотечение, мочеотделение и дефекация. При субтоксических дозах нарушались двигательные функции, отмечалась ригидность мышц конечностей, хождение на вытянутых лапах. Через 15—20 минут поведение животного нормализовалось. При введении токсических доз ганглерона и арпенала развивались тонические и клонические судороги, длящиеся 1—2 минуты, по окончании которых оставалась ригидность мышц. Через 20 минут состояние животных нормализовалось.

Результаты исследований.

Результаты исследований в виде средних величин из соответствующих серий опытов представлены на рис. 1,2,3 и табл. 1.

На рис. 1 приведены средние данные, характеризующие распределение активности холинэстеразы в отдельных клеточных образованиях

Таблица 1

Активность холинэстеразы в отдельных звеньях кожно-двигательного анализатора и в гипоталамусе кролика при действии ганглерона, арпенала и эзерина

Препарат	Количество опытов	Звенья кожно-двигательного анализатора												Гипоталамус					
		Корковый отдел			Вентролатеральные ядра таламуса			Ядра Голля и Бурдаха			Межпозвсночные узлы			Передний отдел			Задний отдел		
		M	±м	P	M	±м	P	M	±м	P	M	±м	P	M	±м	P	M	±м	P
Ганглерон 2 мг/кг	7	20	0,8	<0,01	37	0,8	<0,01	46	1,23	>0,05	24	1,5	<0,05	23	1,5	<0,01	41	1,26	<0,1
Ганглерон 5 мг/кг	5	18	1,36	<0,01	29	1,8	<0,01	43	1,3	<0,01	19	2,9	<0,01	22	1,3	<0,01	31	3,6	<0,01
Ганглерон 7 мг/кг	5	19	2,4	<0,01	36	0,36	<0,01	44	2,04	>0,02	24	2,2	>0,02	24	2,2	<0,01	37	3,3	<0,1
Арпенал 2 мг/кг	5	21	0,72	<0,01	33	1,54	<0,01	43	2,2	>0,02	24	1,9	>0,01	21	3,3	<0,01	34	1,6	<0,01
Арпенал 5 мг/кг	5	24	0,5	<0,01	37	0.2	<0,01	44	1,0	<0,01	19	1,5	>0,01	28	0,63	<0,01	40	1,81	>0,05
Арпенал 7 мг/кг	5	21	1,2	<0,01	35	0,95	<0,01	48	3,4	>0,3	23	0,6	<0,01	24	2,9	<0,01	42	2,4	>0,3
Эзерин 0,05 мг/кг	5	22	0,8	<0,01	34	1,3	<0,01	44	2,0	>0,02	23	2,4	<0,02	25	2,0	<0,01	44	2,6	—

M — средние величины активности ХЭ в процентах расщепленного ацетилхолина (1 г ткани/ 1 час).

кожно-двигательного анализатора и гипоталамуса у половозрелых кроликов в норме (15 опытов). Как видно, уровень активности холинэстеразы в исследованных образованиях мозга не одинаков. Наибольшая активность фермента наблюдается в ядрах Голля и Бурдаха (550

Рис. 1. Активность холинэстеразы (ХЭ) в отдельных звеньях кожно-двигательного анализатора и гипоталамуса кролика. По оси абсцисс — активность ХЭ в μM ах/г ткани. По оси ординат — показатели.

μM /г). Несколько меньше она в вентральном и латеральном ядрах зрительного бугра (506 μM/г). Третье место занимает кожно-двигательная область коры (341 μM/г). Наименьшая активность фермента обнаружена в межпозвоночных узлах (330 μM/г).

Активность холинэстеразы в гипоталамусе несколько ниже, чем в зрительном бугре, причем в переднем отделе она меньше, чем в заднем (соответственно 407 и 484 μM/г).

Как видно из представленных данных, эти препараты вызывают снижение активности холинэстеразы в исследуемых образованиях мозга. Действие их проявляется в каждом из звеньев анализатора и в гипоталамусе в разной степени и зависит от дозы препарата.

Наиболее резко влияние ганглерона проявляется при субтоксических дозах (5 мг/кг веса). При введении ганглерона в этой дозе наибольшее снижение активности фермента обнаруживалось в корковом отделе анализатора (в среднем на 42% от нормального уровня) и в переднем отделе гипоталамуса (на 40%). В меньшей степени тормозилась активность холинэстеразы (ХЭ) в вентролатеральных ядрах зрительного бугра и межпозвоночных узлах (на 37%). В заднем отделе гипоталамуса активность фермента снижалась на 30%. В ядрах Голля и Бурдаха снижение было наименьшим (на 14%).

В терапевтических дозах (2 мг/кг) ганглерон дает сходные эффекты, но несколько менее выраженные (снижение соответственно на 7—38%). Наибольшее снижение активности ХЭ обнаруживается в корковом отделе анализатора и в переднем отделе гипоталамуса (соответственно на 35—38%). Меньше снижается активность фермента в зри-

Влияние ганглерона и эзерина на активность холинэстеразы в отдельных звеньях кожно-двигательного анализатора и в гипоталамусе кролика

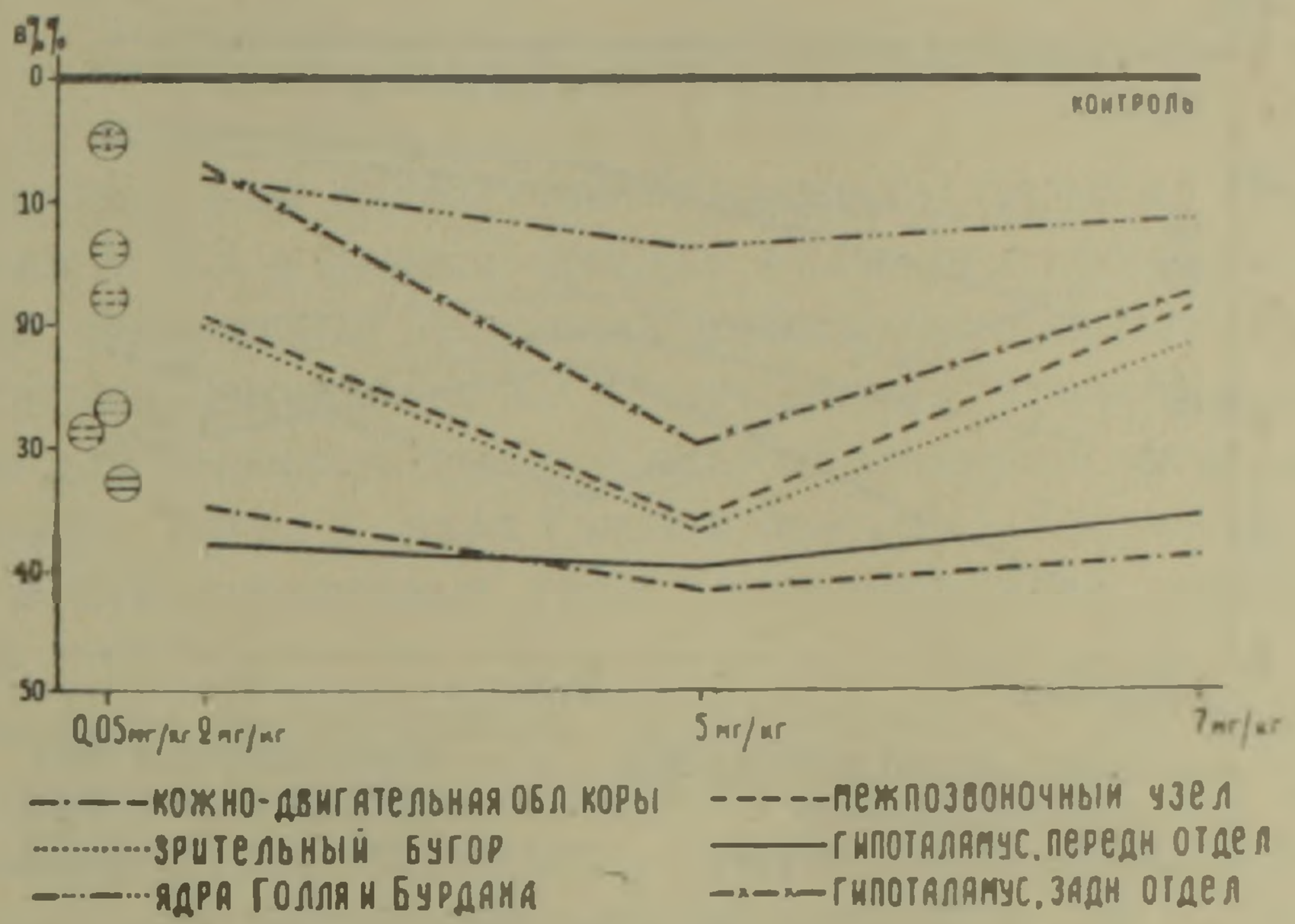

Рис. 2. По оси абсцисс — снижение активности ХЭ в процентах от контрольного уровня. По оси ординат — дозы препаратов.

тельном бугре и в межпозвоночных узлах (на 20%). Относительно мало уменьшается активность ХЭ в ядрах Голля и Бурдаха и заднем отделе гипоталамуса (7—8% от нормы).

В случае арпенала наиболее выраженное снижение активности ХЭ во всех исследованных образованиях мозга, кроме межпозвоночных узлов, проявляется при дозе 2 мг/кг. Как и в случае ганглерона, наибольшее снижение активности ХЭ наблюдается в переднем отделе гипоталамуса, в корковом конце анализатора, и в вентролатеральных ядрах зрительного бугра (соответственно 44, 32, 28% от нормы). В ядрах Голля и Бурдаха и заднем отделе гипоталамуса активность ХЭ снижается в меньшей степени (соответственно на 14 и 22%).

Отмечается особый характер кривой изменения активности ХЭ в межпозвоночных узлах. В этом звене анализатора резкое торможение активности ХЭ происходит при дозе 5 мг/кг (37%), а не при дозе 2 мг/кг (19%).

Снижение активности ХЭ при дозе арпенала 5 мг/кг составляет, по исследуемым образованиям мозга, в среднем 10—37% от контрольного уровня. В заднем отделе гипоталамуса тормозится активность фермента лишь на 10% от нормы. Для переднего отдела гипоталамуса,

коркового конца анализатора и вентролатеральных ядер зрительного бугра снижение активности ХЭ составляет соответственно 26, 23, 20%.

В токсических дозах (7 мг/кг) ганглерон и арпенал снижают активность ХЭ в коре, ядрах зрительного бугра и переднем отделе гипоталамуса практически в одинаковой степени (соответственно на

Влияние арпенала и эзерина на активность холинэстеразы в отдельных звеньях кожно-двигательного анализатора и в гипоталамусе кролика

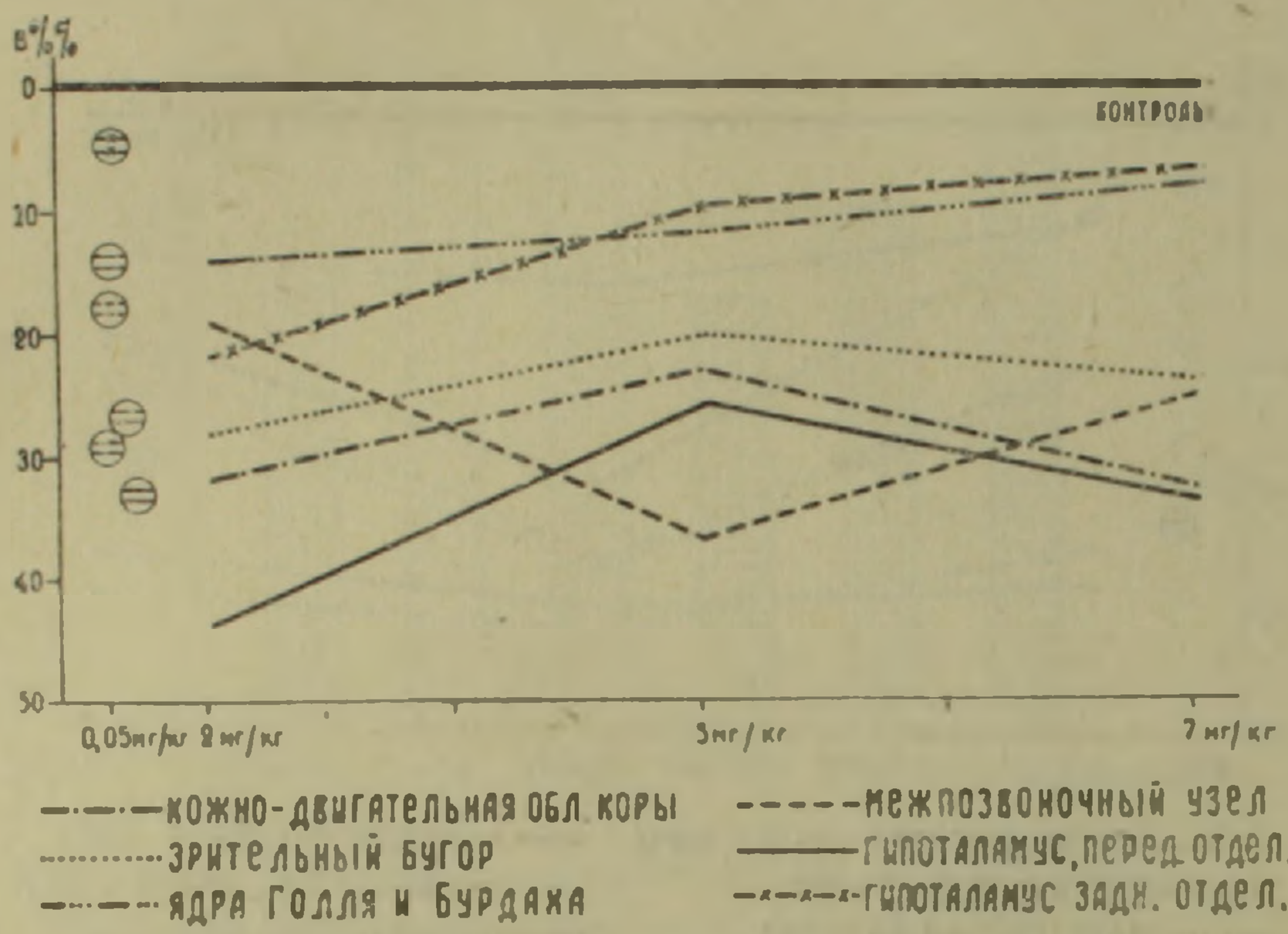

Рис. 3. Обозначения те же, что и на рис. 2.

39, 22, 36% при ганглероне; на 33, 24, 34% при арпенале). Активность фермента в межпозвоночных узлах снижается под влиянием арпенала несколько сильнее (на 25%), чем под влиянием ганглерона (на 19%). Эффект этих доз арпенала на активность ХЭ в заднем отделе гипоталамуса и в ядрах Голля и Бурдаха незначителен (снижение на 7—8%). Несколько сильнее изменяется активность ХЭ в этих образованиях после введения ганглерона (снижение на 18—12%).

Для сравнения с действием ганглерона и арпенала был использован эзерин, как типичный антихолинэстеразный препарат, в терапевтических дозах (0,05 мг/кг веса).

В отличие от ганглерона, влияние эзерина на активность ХЭ проявляется сразу же после введения. Активность ХЭ в исследуемых образованиях через 5 мин. после введения эзерина в этой дозе снижается в разной степени (20—61%). В дальнейшем наблюдается уменьшение эффекта эзерина, а через 45 мин. он уже не проявляется и уровень ХЭ не отличается от такового у контрольных животных. Не останавливаясь на динамике действия этого вещества, можно отметить, что и через 30 мин. после введения эзерина проявляется избирательное действие его на активность ХЭ, совпадающее по своему характеру с таковым при введении ганглерона и арпенала. Как видно из табл. 1 и рис. 1 и 2, наиболее сильно снижается активность ХЭ в корковом отделе анализатора, в ядрах зрительного бугра и переднем отделе гипоталамуса

(28, 27, 33% от нормы). В межпозвоночных узлах, ядрах Голля и Бурдаха и в заднем отделе гипоталамуса в этих условиях активность снижается в меньшей степени (18, 14, 5% от нормы).

Статистическая обработка экспериментальных данных показала, что изменение активности ХЭ под влиянием применяемых препаратов оказалось достоверным в корковом конце двигательного анализатора, вентролатеральных ядрах зрительного бугра и спинальных ганглиях. Изменения активности фермента в ядрах Голля и Бурдаха, а также в заднем отделе гипоталамуса были не всегда достоверными.

Обсуждение результатов.

В доступной нам литературе отсутствуют сведения о распределении активности ХЭ в разных отделах кожно-двигательного анализатора кролика. Результаты настоящей работы показывают, что наиболее высокий уровень активности ХЭ у нормальных половозрелых кроликов характерен для переключательных ядер анализатора (вентральные ядра зрительного бугра и ядра Голля и Бурдаха). Корковый отдел анализатора и межпозвоночные узлы характеризуются меньшей активностью ХЭ.

Гипоталамус по активности приближается к зрительному бугру; передний отдел его отличается меньшей активностью, чем задний отдел. Это находится в соответствии с имеющимися литературными данными о неравномерном распределении активности ХЭ в разных отделах мозга животных, в частности о более низкой активности этого фермента в коре по сравнению с зрительным бугром и гипоталамусом [8,12,13,14,18 и др.].

Такое неравномерное распределение активности ХЭ в разных образованиях мозга, в частности в пределах анализаторной системы, по-видимому, обусловлено в известной мере чередованием в них холинэргических и нехолинэргических структур [12 и др.].

Полученные нами данные показывают, что холинолитические препараты ганглерон и арпенал оказывают тормозящее влияние на активность ХЭ различных образований кожно-двигательного анализатора и гипоталамуса кролика, выявляемое через 30 мин. после введения препарата. Во всех исследуемых образованиях (за исключением ядер Голля и Бурдаха и заднего отдела гипоталамуса в некоторых опытах) эти изменения являлись статистически достоверными.

Избирательное действие ганглерона и арпенала, обнаруженное в настоящей работе, не может быть поставлено в прямую связь с уровнем активности ХЭ в том или другом образовании мозга. Наиболее резкое торможение активности ХЭ проявлялось в коре и зрительном бугре, которые значительно отличаются по уровню активности этого фермента. Точно также ядра Голля и Бурдаха и межпозвоночные узлы проявляют обратные соотношения как по активности ХЭ в норме (она значительно выше в ядрах Голля и Бурдаха), так и по степени изме-

нения активности после введения ганглерона и арпенала. Торможение сильнее проявляется в межпозвоночных узлах, где активность ХЭ ниже. Вместе с тем, как правило, влияние этих препаратов является постоянным и более значительным в вышележащих образованиях анализатора, коре и зрительном бугре, по сравнению с нижележащими образованиями—ядрами Голля и межпозвоночными узлами.

Таким образом, по-видимому, не столько уровень активности ХЭ сколько положение образования в системе анализатора определяет степень чувствительности ХЭ к ганглерону и арпеналу. Это предположение подтверждается и результатами испытания эзерина, где четко выявляется наличие двух групп образований с разной резистентностью фермента: кора и вентролатеральные ядра зрительного бугра с высокой степенью торможения, а ядра Голля и Бурдаха и межпозвоночные узлы с малой степенью торможения активности ХЭ.

Связано ли такое избирательное действие изучавшихся препаратов с особенностями локализации ХЭ в клеточных образованиях этих звеньев анализатора или с отличием в доступе к ним этих препаратов (различных барьерных функциях, кровоснабжении и т. д.) остается в настоящей работе не выясненным.

Существенный интерес представляет избирательность действия исследуемых препаратов на активность ХЭ в гипоталамусе, а именно, более выраженное тормозящее влияние на передний отдел по сравнению с задним отделом. Это, в известной мере, соответствует данным, что разные отделы гипоталамуса значительно различаются между собой по выполняемой функции; передний отдел рассматривается как вегетативный центр парасимпатической нервной системы, а задний отдел является центром симпатической нервной системы [15,16].

Сравнения действия ганглерона и арпенала, как представителей холинолитических препаратов, с действием антихолинэстеразного вещества эзерина позволяют отметить следующее. Все эти препараты сходны по характеру избирательного действия на изучавшихся структурах анализатора. Образования анализатора могут быть разделены на две группы, обладающие разной степенью чувствительности ХЭ к указанным препаратам, однако эффективность их различна. Тормозящее влияние эзерина на активность ХЭ выражено в большей степени, проявляется сразу же после введения его животным и кратковременно (до 45 мин.). Это позволяет высказать предположение, что механизм действия ганглерона и арпенала может быть другим, чем у эзерина. По-видимому, ганглерон и арпенал в отличие от эзерина непосредственно не ингибирует холинэстеразу. Влияние их на этот фермент может быть опосредованным, возможно путем прямого торможения ферментов энергетического метаболизма, в результате чего выключается ацетилхолиновый обмен, в частности тормозится активность холинэстеразы. Установление влияния ганглерона и арпенала на активность окислительных ферментов изучавшихся образований анализатора является задачей дальнейшего исследования.

Выводы

1. Отдельные звенья кожно-двигательного анализатора и разные отделы гипоталамуса кролика отличаются между собой по активности холинэстеразы. Наиболее высокий уровень фермента характерен для ядер Голля и Бурдаха и вентролатеральных ядер зрительного бугра. Корковый отдел анализатора и межпозвоночные узлы характеризуются меньшей активностью ХЭ. Гипоталамус по активности ХЭ приближается к зрительному бугру, передний отдел его отличается меньшей активностью, чем задний отдел.

2. При внутривенном введении кролику ганглерона и арпенала в дозах 2, 5. 7 мг/кг и эзерина в дозе 0,05 мг/кг наблюдается снижение активности ХЭ, проявляемое избирательно в отдельных исследовавшихся образованиях анализатора и гипоталамуса. В переднем отделе гипоталамуса, вентролатеральных ядрах зрительного бугра и корковом отделе двигательного анализатора активность фермента подавляется сильнее, чем в межпозвоночных узлах, ядрах Голля и Бурдаха и заднем отделе гипоталамуса.

3. Степень снижения активности ХЭ в исследуемых образованиях анализатора и гипоталамуса (через 30 мин. после введения) связана с дозой и видом применяемого препарата.

4. Эзерин обладает более сильным тормозящим действием на активность ХЭ, чем арпенал и ганглерон.

Институт мозга АМН СССР
и Институт тонкой органической химии
АН АрмССР

Поступило 17.VI 1963 г.

Մ. Գ. ԱՄԱԴՅԱՆ

ԳԱՆԳԼԵՐՈՆԻ ԵՎ ԱՐՓԵՆԱԼԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԽՈԼԻՆԷՍԹԵՐԱԶԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ՝ ՃԱԳԱՐԻ ՄԱՇԿԱՅԻՆ ԵՎ ՇԱՐԺԻՉ ԱՆԱԼԻԶԱՏՈՐՆԵՐԻ ԱՌԱՆՁԻՆ ԲՋՋԱՅԻՆ ՉԱՆԳՎԱԾՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո ւ մ

Հետազոտվել է գանգլերոնի, արփենալի 2—5—7 մգ/կգ և էզերինի 0,05 մգ/կգ դոզաների ազդեցությունը խոլինէսթերազայի (ԽԷ) ակտիվության վրա՝ ճագարի մաշկային և շարժիչ անալիզատորների առանձին բջջային զանգվածներում։

Յույց է տրված, որ ուղեղի նշված հատվածները նորմայում միմյանցից տարբերվում են ԽԷ ակտիվության մակարդակով։ Գանգլերոնի, արփենալի և էզերինի ներերակային ներարկման դեպքում օրինաչափորեն և ընտրողականորեն նկատվում է ԽԷ ակտիվության իջեցում անալիզատորի և հիպոթալամուսի հետազոտված հատվածներում։

Հիպոթալամուսի առաջնային մասում, տեսողական թմբի բջիջներում և մաշկային-շարժիչ անալիզատորների կեղևային բաժնում, ֆերմենտի ակտիվությունն արգելակվում է առավել, քան հարողնաշարային հանդույցներում, Գոլի ու Բուրդախի բջիջներում և հիպոթալամուսի հետին մասում։

Ֆերմենտի ակտիվության իջեցումը ուղեղի հետազոտված յուրաքանչյուր հատվածում կախված է պրեպարատի առանձնահատկություններից և դոզայից։

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян В. М. В кн.: Ганглерон и опыт его клинического применения, 96, Ереван, 1959 г.
2. Акопян Н. Н., там же, стр. 51.
3. Аничков С. В. кн.:Фармакология новых седативных средств и их клиническое применение, стр. 5, М., 1962.
4. Аносов Н. Н. В кн.: Ганглерон и опыт его клинического применения, стр. 381, Ереван, 1959.
5. Бабичев, В. А. Фармакология и токсикология, т. 18, вып. 3, стр. 37. 1955.
6. Варшамов Л. А. В кн: Ганглерон и опыт его клинического применения, стр 233, Ереван, 1959.
7. Михельсон М. Я., Артёмьев В. С. Фармакологическая характеристика арпенала, «Арпенал и опыт его клинического применения», Ереван. В печати.
8. Покровский А. А., Понамарёва Л., Г., Биохимия, т. 26, вып. 2, стр. 276, 1962.
9. Федорчук Ю. Г. Фармакология и токсикология, т. 15, вып. 16, стр. 55, 1952.
10. Abrahams V, S., Kolle G. B. J. of physiol. v. 139, p. 137, 1957.
11. Bonting S. L., Featherstone R. M. Arch. of biochem. biophys. vol. 61, p. 89, 1956.
12. Feldberg W., Vogt M. J. of physiol. v. 107, p. 372, 1948.
13. Burgen A. S.. Chipman L. M. J. of physiol. v. 114, p. 296, 1951.
14. Foldes F. F., Zsigmond E. K., Folds V. M. J. of neurochem. v. 9, p. 559. 1962
15. Hess W. R. Vegetative funktionen und Zwischenhirn, Basel, 1930.
16. Hess W. R. Das Zwischenhirn, Syndrom, Lokalisationen, Funktionen. Basel, 1951.
17. Hestrin Sh., J. Biol. chem. v. 180, p. 219, 1949.
18. Kolle G. B. J. of Neuropathol. exper. neurol. v. 14. p. 23, 1955.
19. Rose M. J. f. Pisychol. und Neurol. Bd. 43. s. 353, 1930.
20. Winkler C., Potter A. An anatomical guide to experimental researches on the cat's brain, Amsterdam, 1914.