717

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего профессионального образования

«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

БИОЛОГО-ПОЧВЕННЫЙ ФАКУЛЬТЕТ

КАФЕДРА ФИЗИОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ
Специальность: 012000 - физиология
Специализация: 012001- физиология человека и животных

Бачинин А.В.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

ЭФФЕКТЫ СОЕДИНЕНИЯ № 547 НА СИМПТОМЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ МИАСТЕНИИ ГРАВИС У КРЫС.

Работа завершена:
«15» мая 2011 г. _____ (А.В. Бачинин)

Работа допущена к защите:
Научный руководитель
к.б.н., старший научный сотрудник
ИОФХ им. А.Е. Арбузова
КазНЦ РАН
«31» мая 2011 г. _____ (К.А. Петров)

Заведующий кафедрой
д.м.н., профессор
«31» мая 2011 г. _____ (И.Н. Плещинский)

Казань – 2011

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АХ	Ацетилхолин
АХР	Ацетилхолиновый рецептор
АХЭ	Ацетилхолинэстераза
ВМС	Врожденный миастенический синдром
МГ	Миастения Гравис
МПКП	Миниатюрные потенциалы концевой пластинки
МСК	Мышцеспецифичная тирозинкиназа
МСЛИ	Миастенический синдром Ламберта —Итона
МТКП	Миниатюрные токи концевой пластинки
нХР	Никотиновый холинорецептор
НМС	Нервно-мышечный синапс
ПД	Потенциал действия
ПКК	Потенциалзависимые кальциевые каналы
ПКП	Потенциал концевой пластинки
ЭМГ	Экспериментальная миастения Гравис
ЭОМГ	Экстраокулярных мышцах глаза

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
ВВЕДЕНИЕ	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1. Никотиновый холинорецептор	6
1.1.1. Общие сведения	6
1.1.2. Никотиновый холинорецептор скелетной мышцы и электрического органа Torpedo	8
1.2. Ацетилхолинэстераза и ее молекулярные формы	11
1.2.1. Общие сведения	11
1.2.2. Молекулярные формы АХЭ в скелетной мышце	16
1.2.3. Ингибиторы ацетилхолинэстеразы в медицинской практике	19
1.3. Миастения Гравис	20
1.4. Миастеноподобные расстройства	29
1.4.1 Врожденный миастенический синдром	29
1.4.2. Миастенический синдром Ламберта-Итена	30
1.5. Лечение	31
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	34
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	37
3.1. Исследование влияния различных концентраций соединения № 547 на декремент в быстрых скелетных мышцах крысы методом электромиографии	37
3.2. Исследование влияния соединения № 547 на амплитудно - временные параметры синапсов быстрых скелетных мышц крысы микроэлектродным методом	43
ВЫВОДЫ	48
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	49

ВВЕДЕНИЕ

Ингибиторы ацетилхолинэстеразы (АХЭ) традиционно применяются в медицинской практике при деменциях, сопровождающих болезнь Альцгеймера, Паркинсона, черепно-мозговые травмы, сосудисто-мозговые патологии, а также миастении Гравис, спастических формах детского церебрального паралича, атонии кишечника и мочевого пузыря, глаукоме (Jeffrey, Cummings, 2000).

Однако широкому использованию антиАХЭ препаратов препятствует один недостаток – это полное отсутствие избирательности по отношению к ферменту разных органов и тканей. Вследствие чего, одновременно с воздействием на орган, требующий фармакологического вмешательства, происходит ингибирование фермента в органах, функционирование которых в данный момент коррекции не требует. Такое отсутствие избирательности является причиной частых нежелательных последствий, вплоть до летальных исходов из-за нарушения дыхания. Вышеописанных недостатков могли бы быть лишены ингибиторы АХЭ, способные оказывать целевой эффект в отдельных органах и тканях. Поскольку до настоящего времени вещества с подобными свойствами описаны не были, их создание и изучение механизма действия является чрезвычайно актуальной задачей.

Предпосылки тому, что создание подобных соединений возможно появились при исследовании нового класса ингибиторов АХЭ – алкиламмониевых производных 6-метилурацила, характеризующихся высокой избирательностью в отношении препаратов АХЭ млекопитающих (Petrov et al., 2009). Было установлено, что пороговая концентрация одного из наиболее эффективных алкиламмониевых производных 6-метилурацила - соединения № 547, вызывающая изменения амплитудно-временных параметров синаптических ответов, характерные для практически полного ингибирования АХЭ, в синапсах дыхательных мышц (диафрагма и межреберные мышцы) в 20-100 раз больше, чем в синапсах локомоторных

мышц – («быстрой» - m. extensor digitorum longus (m. EDL) и «медленной» - m. soleus) (Petrov et al., 2006, 2009). То есть синапсы дыхательной мускулатуры значительно более устойчивы к действию данного соединения по сравнению с мышцами конечностей. Кроме того, получены данные, позволяющие говорить о том, что АХЭ сердца (Abramochkin et al., 2009), мозга (Petrov et al., in press) и гладкой мускулатуры значительно менее эффективно ингибируются алкиламмониевыми производными 6-метилурацила, по сравнению с АХЭ скелетных мышц. Константы ингибирования АХЭ соединением № 547, полученные на гомогенатах мышц, на четыре порядка отличаются от констант ингибирования, полученных для сердца, мозга и подвздошной кишки, что делает соединение № 547 перспективным для лечения МГ.

В связи с этим, **целью** данной работы стало исследование соединения № 547 на способность устранять симптомы заболевания в экспериментальной модели миастении гравис. Для достижения данной цели решались следующие конкретные **задачи:**

1. Вызвать экспериментальную миастению гравис введением белка (DGDFAIVKFTKVLLDYTGHI) (Baggi et al., 2003) – аналогичного последовательности основного иммуногенного участка альфа субъеденицы АХ-рецептора
2. Диагностировать развитие экспериментальной Миастении Гравис по наличию декремента амплитуды М-ответа при ритмической стимуляции мышцы крысы.
3. Диагностировать развитие экспериментальной Миастении Гравис по снижению амплитуды МТКП.
4. Подобрать дозу С-547, которая эффективно устраняет симптомы экспериментальной Миастении Гравис восстанавливая деремент и МТКП до контрольных значений.

ВЫВОДЫ

1. Белок (DGDFAIVKFTKVLLDYTGHI) – аналогичный последовательности основного иммуногенного участка альфа субъеденицы АХ-рецептора, растворенный в адьюванте CFA вызывает симптомы Миастении Гравис.

2. Выраженный декремент амплитуды М-ответа при ритмической стимуляции подтверждает развитие экспериментальной модели МГ.

3. Падение амплитуды МТКП свидетельствует о снижении количества функционально активных АХР на постсинапсе что подтверждает развитие ЭМГ у крыс.

4. Соединение № 547 в дозе 8 нг\кг эффективно снимает симптомы ЭМГ что свидетельствует о его эффективности в качестве потенциального лекарственного средства для снятия симптомов экспериментальной миастении гравис.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зенков, Л.Р Функциональная диагностика нервных болезней / Л.Р. Зенков, М.А. Ронкин - М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 185 с.
2. Команцев, В.Н. Методические основы клинической электронейромиографии. / В.Н. Команцев, В.А. Заболотных - СПб. : Лань, 2001. – 112 с.
3. Кривой, И. И. Нервно-мышечный синапс и антихолинэстеразные вещества / И. И. Кривой, В. И. Кулешов, Д. П. Матюшкин. – Л.: изд-во ЛГУ им. А.А. Жданова, 1987. – С. 238 - 240.
4. Кривой, И. И. Холинергическая модуляция нервно-мышечной передачи. Автореф. дис: докт. биол. наук / И. И. Кривой. - Санкт-Петербург, 1998. - 40 с.
5. Магазаник, Л. Г. Следовые постсинаптические реакции в нервно-мышечных соединениях / Л. Г. Магазаник // Эволюционная биохимия и физиология. – 1998. – No 24. - С. 657-667.
6. Скок, В. И. Нейрональные холинорецепторы / В. И. Скок, А. А. Селянко, В. А. Деркач. - М.: Наука, 1987. - 343 с.
7. Холинергическая регуляция биохимических систем клетки. / С. Н. Голиков [и др.]. - М.: Медицина, 1985. - 224 с.
8. Abramochkin, D.V. Mechanisms of cardiac muscle insensitivity to a novel acetylcholinesterase inhibitor C-547 / D. V. Abramochkin, L. V. Rosenshtraukh, K. A. Petrov, V. V. Zobov, L. O. Yagodina, E. E. Nikolsky // Journal of Cardiovascular Pharmacology. – 2009. – V. 53. – No 2. – P. 162-166.
9. Alema, S. Properties of end-plate channels in rats immunized against acetylcholine receptors / S. Alema, S. G. Cull-Candy, R. Miledi, A. Trautmann // J. Physiol. – 1980. – V. 311. – P. 251-266.