

ДЕСЕНСИТИЗАЦИЯ В ХОЛИНЕРГИЧЕСКОМ СИНАПСЕ: МЕХАНИЗМЫ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

Р. А. Гиниатуллин

*Кафедра нормальной физиологии (зав.— проф. А. Л. Зефилов)
Казанского медицинского института*

При длительном или часто повторяющемся действии биологически активных веществ и лекарственных агентов на хемовозбудимые мембраны развивается десенситизация — снижение чувствительности рецепторов к агонисту. Это явление привлекает повышенное внимание физиологов и фармакологов в связи с появлением фактов, свидетельствующих о том, что десенситизация может служить естественной формой ограничения процесса возбуждения в химических синапсах и регулировать эффективность действия лекарственных средств.

Исследование механизмов и функциональной роли феномена снижения чувствительности постсинаптической мембраны к ацетилхолину (АХ) проводили в методически наиболее доступном для этой цели объекте — холинергическом синапсе в скелетной мышце. Для исследования десенситизации с помощью метода фиксации потенциала регистрировали токи, вызываемые экзогенным и эндогенным АХ, выделяемыми в квантовой форме из двигательных нервных окончаний в нервно-мышечных синапсах теплокровных и холоднокровных животных.

1. Развитие десенситизации при ритмической активности синапса. Для физиологии и фармакологии синаптической передачи наибольший интерес представляет вопрос о возможности развития десенситизации за счет эндогенного АХ. При изучении этого вопроса мы попытались вызвать снижение чувствительности постсинаптической мембраны с помощью эндогенного АХ, выделяемого из нервных окончаний в ходе ритмической активности синапса. Для этого использовали метод блокирования мышечных сокращений с помощью поперечного рассечения мышечных волокон [1], что позволило регистрировать первичную реакцию постсинаптической мембраны на медиатор — токи концевой пластинки (ТКП) при высоком уровне вызванной секреции порядка 100 —

200 квантов АХ на один нервный импульс.

Оценку возможности развития десенситизации при ритмической активности синапса первоначально проводили в синапсах лягушки при ингибировании фермента ацетилхолинэстеразы (АХЭ), что повышало уровень эндогенного АХ и, следовательно, вероятность развития этого феномена. Для выяснения состояния чувствительности постсинаптической мембраны нами был использован тест, который заключался в регистрации ответов мембраны на одиночные кванты АХ — миниатюрных ТКП (МТКП) сразу после периода активности синапса [1]. Амплитуда этих сигналов характеризует состояние чувствительности постсинаптической мембраны. Оказалось, что после 60-секундной активности синапса с частотой 10 Гц происходит снижение амплитуды МТКП на 30%, что свидетельствует о развитии десенситизации постсинаптической мембраны [1, 4, 13]. Снижение квантового состава резко снижало вероятность развития десенситизации. Эти эксперименты свидетельствуют о том, что для развития десенситизации не требуется постоянного присутствия свободного АХ у рецепторов. Данное явление может развиваться как кумулятивная реакция благодаря сохранению соответствующих конформационных состояний рецептора в межстимульные интервалы.

Физиологическая команда, поступающая к мышце в естественных условиях, представляет собой короткие пачки импульсов, поэтому интересно было выяснить, сможет ли десенситизация проявиться в ходе пачки ТКП, состоящей всего из нескольких сигналов? Для этого создавали условия, благоприятствующие развитию десенситизации. В частности, опыты проводили в присутствии промотора десенситизации — агента SKF-525A, структурного аналога АХ, не обладающего агонистической активностью [11, 13].

В опытах с SKF-525A в ходе пачки ТКП из 15–17 сигналов (частота стимуляции — 10 Гц) происходило значительное (до 25% от исходной величины) снижение амплитуды ТКП [3, 13]. Постсинаптическая природа этого снижения, то есть связь его с десенситизацией, подтвердилась тем, что эффект был потенциалзависимым, усиливаясь при гиперполяризации мембраны. При трактовке физиологической роли этих наблюдений следует иметь в виду, что такие эндогенные биологически активные соединения как пептид, генетически родственный кальцитонину [10], и тимопоэтин [16] способны в физиологических концентрациях, как и SKF-525A, значительно ускорять развитие десенситизации. В наших экспериментах было установлено, что такой же способностью обладает другой нейропептид — субстанция Р [6]. Кроме того, десенситизацию в ходе короткой пачки ТКП ускоряют такие агенты, как блокатор кальциевых каналов верапамил [5] и антимиотические средства винбластин и колхицин [2]. Можно ожидать, что указанные лекарственные агенты при использовании в высоких дозах могут способствовать развитию мышечной слабости за счет влияния на скорость развития десенситизации.

В синапсах крысы уже короткий 5-секундный период активности синапса (частота 10 Гц) вызывал снижение амплитуды тестовых МТКП до 45%, то есть десенситизация развивалась значительно быстрее, чем у лягушки.

Развитие десенситизации при ритмической активности синапса, хотя и в меньшей степени, чем при ингибированной АХЭ, наблюдалось и при активной АХЭ. В этом случае снижение чувствительности также было более выражено у теплокровных, чем у холоднокровных животных. Следует учесть, что использованные частоты стимуляции нерва были существенно ниже, чем естественная активность двигательного нерва.

Таким образом, десенситизация при активной и ингибированной АХЭ может развиваться в ходе ритмической активности синапса в результате накопления эндогенного АХ и служить одним из компонентов депрессии синаптической передачи. Необходимым условием этого является высокий (физиологический) уровень квантового

состава, обеспечивающий повторное попадание квантов АХ на ранее активированный участок мембраны.

2. Роль десенситизированных рецепторов в генерации одиночного сигнала. Известно, что десенситизированные рецепторы могут быть нормальным компонентом постсинаптической мембраны. Кроме того, предполагается, что такие рецепторы обладают повышенным сродством к АХ [11]. Это дает основания думать, что десенситизация может влиять не только на передачу ритмических серий сигналов через синапс, но и что десенситизированные рецепторы могут определять амплитуду и длительность одиночных синаптических сигналов.

Для ответа на вопрос о функциональной роли десенситизированных рецепторов в процессе генерации одиночного сигнала сравнивали влияние на амплитуду и длительность спада МТКП: а) частичной десенситизации, вызванной экзогенным АХ, и б) блокирования рецепторов необратимым блокатором — α -бунгаротоксином. Известно, что α -бунгаротоксин способен при ингибированной АХЭ вызывать ускорение спада синаптического сигнала за счет уменьшения повторной активации рецепторов АХ. В наших экспериментах при сопоставлении амплитуды и длительности синаптических токов в двух указанных ситуациях оказалось, что десенситизированные рецепторы осуществляют эффект укорочения сигнала (и снижают повторную активацию ХР) гораздо более эффективно, чем блокированные α -бунгаротоксином [15]. В последнем случае такое же, как при развитии десенситизации укорочение МТКП, требует значительного уменьшения амплитуды сигнала. Десенситизированные рецепторы укорачивают сигнал первоначально практически без изменения его амплитуды, что может быть объяснено высокоаффинным улавливанием АХ из синаптической щели. Таким образом, по эффективности устранения повторной активации рецепторов АХ и по их роли в синаптической передаче десенситизированные рецепторы могут быть сопоставлены с ферментом АХЭ.

Такое представление о роли десенситизированных рецепторов как «ловушек» для АХ может объяснить те большие вариации в степени замедле-

ний временного хода синаптических сигналов, которые исследователи наблюдают при использовании ингибиторов АХЭ разного механизма действия, поскольку ингибиторы АХЭ могут продуцировать разное число десенситизированных рецепторов. Дозируемое продуцирование таких рецепторов, способных заменить АХЭ, может быть использовано для патогенетической терапии при отравлениях ингибиторами АХЭ.

3. Роль неквантовой секреции медиатора в продуцировании десенситизированных рецепторов. В качестве фактора, обеспечивающего в отсутствие импульсной активности синапса появление десенситизированных рецепторов в постсинаптической мембране может выступить неквантовая секреция медиатора, составляющая до 98% АХ, выделяемого в покое [14]. Для проверки такой возможности сравнивали динамику неквантовой секреции и параметров МТКП.

Оказалось, что на фоне ингибированной армией АХЭ параллельно с падением уровня неквантовой секреции происходит укорочение синаптических сигналов. Этот эффект отсутствовал, если предварительно была выключена неквантовая секреция с помощью денервации, ионами Mg^{2+} и оубаином [8, 9, 12]. Кроме того, оказалось, что процесс укорочения МТКП, как и десенситизация, отличается высокой чувствительностью к температуре — при ее повышении он значительно ускорялся и сопровождался вслед за укорочением сигналов падением их амплитуды [4]. Укорочение сигналов развивалось быстрее в тех синапсах, где их исходная длительность, а следовательно, и концентрация эндогенного АХ были выше [12]. И, наконец, усиление неквантовой секреции за счет удаления ионов Mg^{2+} [17] усиливало и ускоряло эффект укорочения.

Исходя из этих данных, можно сделать вывод о том, что неквантовая секреция АХ способна влиять на квантовые ответы, обеспечивающие проведение возбуждения с нерва на мышцу. Эффект неквантового АХ, направленный на увеличение количества десенситизированных рецепторов в сочетании со способностью последних как «ловушек» улавливать свободный АХ в синаптической щели, может служить компенсаторным механизмом, направ-

ленным на устранение избытка медиатора. Это особенно важно в онтогенезе, при синдромах функциональной недостаточности АХЭ, в тонических мышцах и холинергических синапсах ЦНС. Кроме того, целенаправленная регуляция уровня неквантовой секреции может оказаться полезным инструментом для нормализации синаптических сигналов при интоксикациях ингибиторами АХЭ.

Таким образом, десенситизация под влиянием эндогенного АХ как квантового, так и неквантового происхождения может регулировать функциональное состояние постсинаптической мембраны холинергического синапса в скелетной мышце. В данной работе мы рассмотрели лишь часть вопросов, касающихся изменений чувствительности постсинаптической мембраны под влиянием агониста. Помимо приведенных в настоящей работе результатов, нами были получены данные о том, что АХ способен вызывать необратимую инактивацию рецепторов [15], а также блокировать им же открываемый ионный канал [7]. Эти данные позволяют сформулировать концепцию постсинаптической пластичности химического синапса, в основе которой лежат кратковременные и долговременные переходы холинорецепторов в различные кинетические состояния под влиянием самого АХ, что в итоге приводит к приспособлению синаптического аппарата к новым условиям функционирования. Эти данные раскрывают новые механизмы, через которые может осуществляться целенаправленная коррекция синаптической передачи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гиниатуллин Р. А., Бальцер С. К., Никольский Е. Е., Магазаник Л. Г. // *Нейрофизиология*. — 1986. — № 5. — С. 645 — 654.
2. Гиниатуллин Р. А., Бальцер С. К., Волков Е. М. // *Нейрофизиология*. — 1988. — № 1. — С. 75 — 81.
3. Гиниатуллин Р. А., Хазипов Р. Н. // *Бюлл. эксп. биол. и мед.* — 1989. — № 12. — С. 654. — 657.
4. Гиниатуллин Р. А., Оранская Т. И., Воронин В. А., Никольский Е. Е. // *Нейрофизиология*. — 1990. — № 4. — С. 507 — 513.
5. Гиниатуллин Р. А., Хамитов Х. С. // *Тезисы докладов Всесоюзной конференции по нейронаукам*. — Киев, 1990.
6. Гиниатуллин Р. А., Зефирова А. Л., Магазаник Л. Г., Ощепкова С. Ф. // *Нейрофизиология*. — 1991. — № 4. — С. 436 — 441.
7. Гиниатуллин Р. А., Швецов А. Б. // *Нейрофизиология*. — 1992. — № 3. — С. 269 — 279.

8. Гилятуллин Р. А., Оранская Т. И., Хазипов Р. //Нейрофизиология.— 1992.— № 4.— С. 396—404.

9. Гилятуллин Р. А., Хазипов Р. И., Оранская Т. И. //Бюлл. экспер. биол.— 1992.— № 7.— С. 6—7.

10. Caratsch C. G., Eusebi F. //Neurosci. Letters.— 1990.— Vol. 3.— P. 344—351.

11. Cohen J. B., Strnad N. P. //In: Molecular mechanisms of desensitization to signal molecules.— (Ed. Konjin T. M. et al) — Heidelberg: Springer—Verlag.— 1987.— P. 257—273.

12. Giniatullin R. A., Khazipov R. N. et al. //J. Physiology (London).— 1993.— Vol. 466.— P. 105—115.

13. Giniatullin R. A., Khamitov Kh. S. et al. //J. Physiology (London).— 1989.— Vol. 412.— P. 113—122.

14. Katz B., Miledi R. //Proc. R. Soc. Lond. B.— 1977.— Vol. 196.— P. 59—72.

15. Magazanik K. G., Snetkov V. A., Giniatullin R. A., Khazipov R. N. //Neurosci. Letters.— 1990.— Vol. 113.— P. 281—285.

16. Ochoa E. L. N., Medrano S., de Carlin M. C. L., Dillonardo A. M. //Cell. Mol. Neurobiol.— 1988.— Vol. 8.— P. 325—331.

17. Zemkova H., Vyskocil F. //Neurosci. Letters.— 1989.— Vol. 103.— P. 293—297.

Поступила 17.01.94.

DESENSITIZATION IN CHOLINERGIC SYNAPSE: MECHANISMS AND PHYSIOLOGIC ROLE

R. A. Giniatullin

Summary

The development of desensitization during the rhythmic activity of synapse as a result of the action of mediator nonquantal secretion is described, the data of a capacity to accelerate desensitization in a series of drugs and biologically active compounds are presented. A concept of postsynaptic plasticity of chemical synapse is proposed which provides the basis for short-term and long-term transfers of cholinergic receptors into different kinetic state under the influence of acetylcholine by itself resulting in the adaptation of synaptic apparatus to the new conditions and is the basis for purposeful correction of the synaptic transfer.

УДК 612.885

НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ПОВЕРХНОСТНОЙ МЕМБРАНЫ ФАЗНЫХ МЫШЕЧНЫХ ВОЛОКОН

Е. М. Волков

Кафедра общей биологии и медицинской генетики (зав.— проф. Г. И. Полетаев)
Казанского медицинского института

Благодаря достижениям молекулярной биологии последних лет произошли конкретизирование первоначальных слишком расплывчатых представлений о природе и роли трофического влияния нервной системы на иннервируемый объект. Итогом этого стало появление термина «нейротрофический контроль», под которым следует понимать способность к регуляции экспрессивности и пенетрантности ряда фенотипических признаков мышечной клетки, определяющих ее наивысшую готовность к выполнению специфической функции [12]. Особое место занимает проблема нейротрофической регуляции свойств возбудимой мембраны скелетных мышц, представляющей собою воспринимающее звено в механизме управления двигательной активностью мышцы. От надежности этого звена в значительной степени зависит функция мышцы как органа, обеспечивающего подвижность.

Перерезка двигательного нерва, нарушающая нейротрофический контроль, приводит к дегенерации нервно-мышечного синапса, прекращению

нервно-мышечной передачи и соответственно к выключению двигательной активности. Последствиями являются отсутствие ионных токов, протекающих в поверхностной мембране в момент прохождения потенциала действия, и связанного с этим самого акта мышечного сокращения, прекращения секреции ацетилхолина и поступления к мышце веществ, переносимых аксонным транспортом, а также появление продуктов дегенерации нерва. Изменения функциональных свойств возбудимой мышечной мембраны происходят на фоне указанных последствий перерезки нерва. Можно думать, что отсутствие одного или группы перечисленных факторов влияния нервной системы на мышцу приводит к разрыву в ней денервационного синдрома.

Настоящая работа посвящена анализу экспериментальных данных, полученных при изучении механизмов нейротрофического контроля функциональных свойств мембраны скелетных мышечных волокон у взрослых позвоночных животных.