УДК 615.217.34.32:212.7

Л.А.Громов, проф., Е.Н.Струменская, к.м.н.*

ОПИОИДЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АНТИХОЛИНЕРГИЧЕСКОГО ПСИХОЗА

**Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины, г. Киев*
Национальный медицинский университет им. А.А.Богомольца, г. Киев

Клиническая картина отравлений атропиноподобными лекарственными препаратами (атропин, скополамин, амизил, препараты красавки и др.) характеризуется развитием психоза, что проявляется в виде делирия с обильными зрительными и тактильными галлюцинациями, спутанностью сознания, психомоторным возбуждением, амнезией.

Указанные атропиноподобные вещества относятся к группе центральных М-холинолитиков (М-холиноблокаторов, антихолинергических средств). Первичная фармакологическая реакция этой группы препаратов обусловлена блокадой М — холинорецепторов, что снижает или прекращает ацетилхолиновую синаптическую передачу. Однако бъяснить всю гамму психотоксических проявлений действия М — холиноблокаторов только с позиции блокады М — холинорецепторов не представляется возможным. Так, многочисленные данные литературы свидетельствуют об изменении функционирования других нейромедиаторных систем (адренергической, серотонинергической, дофаминергической) при действии терапевтических и токсических доз центральных М — холиноблокаторов.

В ряду центральных факторов регуляции функций организма и синаптической передачи важная роль принадлежит системе опиоидных нейропептидов(мет- и лей-энкефалинам, β-эндорфину). Установлено, что система опиоидных нейропептидов контролирует не только процессы ноцицепции, но и психофизиологические функции [2].

Это делает оправданным исследование патогенеза антихолинергического делирия с позиции изменений функционирования опиоидергических систем.

В данной работе представлены результаты исследования содержания опиоидных нейропептидов (мет-, лей-энкефалинов, β-эндорфина) в мозге белых крыс при действии психотоксической дозы М-холинолитика атропина, а также влияние этого вещества на рецепторное связывание мет- энкефалина синаптосомами нейронов головного мозга.

Методы исследования

Опыты проведены на белых крысах линии Вистар массой 180-220 г обоих полов, содержавшихся на стандартных условиях вивария.

Выделение опиоидных нейропептидов (метионин-, лейцин-энкефалинов и β-эндорфинов) из головного мозга (без мозжечка) животных осуществляли по методу, описанному В.А.Жилой, Л.А.Громовым [3]. Содержание опиоидных нейропептидов изучали радиоиммунным методом с использованием RIA — наборов фирмы "Immuno Nuclear Corporation" США. Для определения радиоактивности использовали сцинтилляционную жидкость ЖС-8. Подсчет радиоактивности производили на аппарате "Tri-carb" ("Packard", США).

Содержание опиоидных нейропептидов в мозге выражали в нг/кг. Уровень нейропептидов определялся в динамике через 0,5;1;3;5 и 24 ч после внутрибрюшинного введения атропина в дозе 40 мг/кг.

Рецепторное связывание метионин-энкефалина определяли путем взаимодействия ^{3}Н-метионин-энкефалина с синаптосомами нейронов головного мозга крыс. Грубую синаптосомальную фракцию выделяли из головного мозга по методу [1]. Определение белка проводили по О.Лоури. Стандартную кривую строили по бычьему сывороточному альбумину.

Равновесное связывание меченого тритием мет-энкефалина с препаратами синаптосом определяли при 27°С в течение 10 мин в 1 мл инкубационной среды следующего состава: 50 mM трис-HCL-буфер; pH — 7,7; 50 мкг бацитроцина;0,6-0,8 мг белка, 4 нМ ^{3}Н-метионин-энкефалина(200000 имп./мин).

Величину специфического связывания определяли как разницу в связывании метки в отсутствии и присутствии 1мкМ немеченого метионин-энкефалина. Прединкубация проб проводилась при 27-28° С на водяной бане в течение 10 минут. Реакцию останавливали добавлением 3 мг охлажденного 50 mM трис-HCL-буфера, pH-7,7. Затем пробы быстро фильтровали через стеклянные фильтры GF/c("Whatman", Великобритания) при помощи водоструйного насоса. Фильтры подсушивали и переносили во флаконы для измерения радиактивности, в которые наливали по 9 мл сцинтилляционной жидкости ЖС-8.

Определение радиоактивности проводили в сцинтилляционном счетчике "Rack-Beta"(фирма "LKB", Швеция).Величину специфического связывания выражали в имп./ мин/ мг белка.

Специфическое связывание ^{3}Н-метионин-энкефалина с синаптосомами мозга изучали в опытах in vitro и in vivo. В опытах in vivo атропин вводили в психотоксической дозе 40 мг/кг внутрибрюшинно, после чего через 30 минут животных декапитировали, извлекали головной мозг и начинали опыт, как описано выше.

В исследованиях in vitro вначале проводили выделение синаптосомальной фракции головного мозга. В инкубационную среду вносили атропин в концентрации 10^{-4}. Время инкубации составляло 5 мин.

Статистический анализ полученных данных производили по методу Стьюдента.

Результаты и обсуждения

Проведенные опыты показали, что атропин в психотоксической дозе(40 мг/кг) снижает уровень метионин-энкефалина (МЭН), лейцин-

энкефалина (ЛЭН) и β-эндорфина (β-энд) в мозге животных. Достоверное снижение содержания опиоидных нейропептидов наблюдается уже через 30 мин после введения атропина, что совпадает с началом развития двигательной гиперактивности животных и является экспериментальным эквивалентом психомоторного возбуждения, характерного для делириозного синдрома. По мере развития интоксикации (1-24 ч) регистрируется более выраженное снижение количества опиоидных нейропептидов.

Уровень ЛЭН снижается на 12%, 41%, 64%, 66%,2 8% соответственно через 0,5;1;3;5 и 24 ч после введения атропина (рис.1). Содержание МЭН уменьшается на 27%, 50%, 34%,38% и 50% ,а β-эндорфина — на 16%, 19%, 31%, 36% и 50%, соответственно, через 0,5; 1; 3; 5и 24 ч (рис.2, 3). Обращает на себя внимание длительность снижения содержания опиоидных нейропептидов при действии психотоксической дозы атропина, уровень которых не восстанавливается через 1 сут после его введения.

Развитие психомоторного возбуждения при отравлении атропиноподобными веществами связывается с активацией адренергической системы. Этот механизм рассматривается с двух позиций. Во-первых, известно, что атропиноподобные вещества являются либераторами норадреналина из пресинаптических депо и это приводит к активации адренергической системы. Во-вторых, атропиноподобные вещества способствуют усиленному выделению ацетитлхолина из пресинаптических депо, что приводит к возбуждению незаблокированных Н-холинорецепторов, инициирующих освобождение катехоламинов.

В наших исследованиях установлено, что атропин снижает уровень опиоидных нейропептидов. Известно [4,5], что в регуляции выделения ацетилхолина и норадреналина принимают участие пресинаптические опиатные рецепторы и их эндогенные лиганды — энкефалины и эндорфины. Поэтому снижение уровня опиоидных нейропептидов способствует усилению выделения ацетилхолина и норадреналина из нервных терминалий. И это может быть важным, если не решающим, звеном в патогенезе развития двигательной гиперактивности и психомоторного возбуждения при отравлении атропиноподобными веществами.

Одним из механизмов снижения уровня опиоидных нейропептидов при интоксикации атропиноподобными веществами может быть ингибирование рецепторного связывания опиоидов, так как свободные (несвязанные)молекулы энкефалинов и эндорфинов подвержены быстрой ферментативной деградации (разрушению) под влиянием энкефалиназ.

В связи с этим на следующем этапе работы были проведены исследования по определению влияния атропина на рецепторное связывание МЭН.

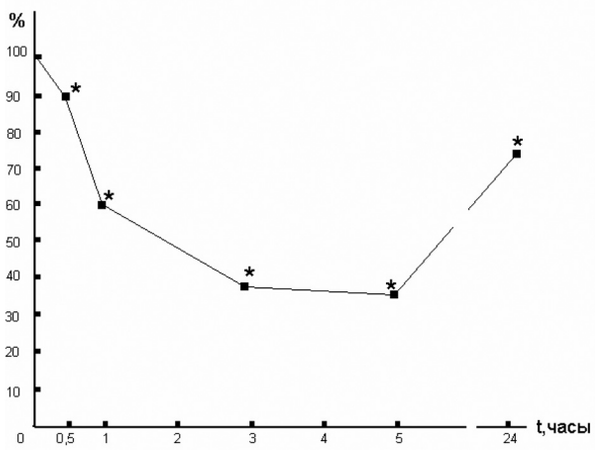

Рис.1. Влияние атропина на содержание лейцин-энкефалина в мозге белых крыс. На этом и рис 2,3 * - P < 0,05 по сравнению с контролем.

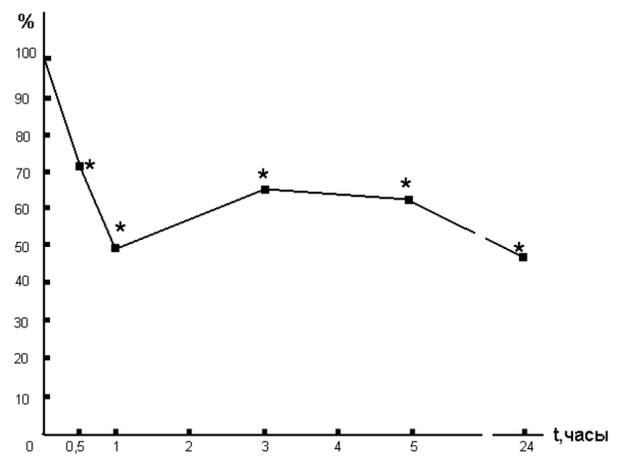

Рис.2. Действие атропина на содержание метионин-энкефалина в мозге белых крыс

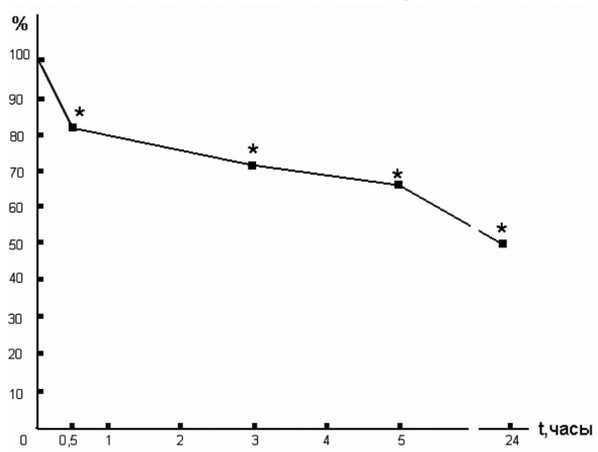

Рис. 3. Влияние атропина на содержание β-эндорфина в мозге белых крыс

В опытах in vivo изучали действие атропина, введенного внутрибрюшинно белым крысам в дозе 40 мг/кг, на рецепторное связывание ^{3}H-метионин-энкефалина. Декапитацию животных и определение радиорецепторного связывания ^{3}H-МЭН проводили через 30 мин после введения атропина. Результаты опытов представлены в табл. 1.

Как видно из приведенных данных, атропин снижает рецепторное связывание ^{3}H-МЭН на 25%. Указанное действие атропина было подтверждено и в опытах in vitro. Оказалось, что инкубация синаптосом головного мозга с атропином в концентрации 10^{-4} М снижает рецепторное связывание на 30% (табл.2).

Полученные результаты свидетельствуют, что атропин снижает уровень опиоидных нейропептидов в мозге, и это может быть связано с нарушением их рецепторного связывания. Эти процессы являются важным звеном в патогенезе психотического действия атропиноподобных веществ.

Таблица 1

Влияние атропина(40 мг/кг) на рецепторное связывание ^{3}H-мет-энкефалина (имп./мин/мг белка) синаптосомами мозга крыс

Статистические показатели	Контроль	Опыт
M	1935	1468
±m	175	135
n	8	7
P	—	<0,05
% изменения	—	-25,0

Таблица 2

Влияние атропина (10^{-4}) на рецепторное связывание ^{3}H-мет-энкефалина (имп./мин/мг белка) синаптосомами

Статистические показатели	Контроль	Опыт
M	1707	1202
±m	118	96
n	5	5
P	—	<0,05
% изменения	—	-30,0

ЛИТЕРАТУРА

1. *Балашов А.М., Брусов О.С., Балакирева Н.Н., Панченко Л.Ф.* Исследование взаимодействия Д-Ala^2-Туг-3,5-^{3}H энкефалина (5Д-Leu) с рецепторами головного мозга крыс//Биохимия. — 1981.— 46-Вып.6.— С.1067-1072.
2. *Громов Л.А.* Нейропептиды. — Киев: "Здоровье", 1992.—246 с.
3. *Жила В.А., Громов Л.А.* Выделение опиоидных нейропептидов из мозга и крови и их количественное определение радиоиммунологическим методом//Укр.биохим.журн.— 1984.—56, №6.—С.661-663.
4. *Beani L., Bianchi G., Siniscalchi A.* The effect of naloxone on opioid-induced inhibition and facilitation of acetylcholine release in brain slices//Brit.J.Pharmacol.—1982.—76,№3.— P.393-401.
5. *Schoffelmeer A.N.M., Mulder A.M.* Differential control of Ca++ — dependent ^{3}H-noradrenaline release from rat brain slices through presynaptic opiate receptor and alpha-adrenoreceptor//Eur.J.Pharmacol.—1983.—81,№4.—P.449-458.

Л.О. Громов, О.М. Струменська

ОПІОІДЕРГЧІНІ МЕХАНІЗМИ АНТИХОЛІНЕРГІЧНОГО ПСИХОЗУ

Радіоімунним методом встановлено, що при внутрішньоочеревинному введенні атропіну у психотоксичній дозі (40 мг/кг) у мозку білих щурів знижується рівень метіонін-, лейцин-енкефалінів та бета-ендорфіну на протязі 24 год спостереження. Це може бути пов'язано з тим, що, як показали досліди, проведені in vivo та in vitro, атропін знижує радіорецепторне зв'язування ^{3}H-метіонін-енкефаліну на 25% та 30% відповідно. Вважають, що ці процеси є важливим ланцюгом в патогенезі отруєнь атропіноподібними речовинами.

L.O.Gromov, O.M.Strumenska

OPIODERGIC MECHANISMS OF ANTICHOLINERGIC PSYCHOSIS

Using radioimmune analysis it was found out that intraperitoneal injection of atropine in psychotoxic doses (40 mg/kg) causes decrease of methyonine-, leucine-encephalines and beta-endorphines levels in the brain of white rats for at least during first 24 hours after the administration. It could be caused by the fact that atropine decrease radioreceptor binding of ^{3}H-methionine-encephaline by 25% and 30% respectively as was shown in the experiments in vitro and in vivo. The possible role of the mentioned atropine dose in the pathogenesis of psychomotor excitement under poisoning of atropine-like substances is discussed.