

Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
im. Mirosława Mossakowskiego
Polskiej Akademii Nauk

Piotr Wojciechowski

**Wpływ analogów neuropeptydowych o działaniu przeciwbólowym
na wzorzec oddechowy i funkcje sercowo-naczyniowe
u uśpionych szczurów**

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem
prof. dr hab. n. med. Małgorzaty Szereda-Przestaszewskiej
w Pracowni Odruchów Oddechowych Zakładu Farmakologii Doświadczalnej
IMDiK PAN



Warszawa, 2014

Streszczenie

Rytmiczne oddychanie, niezbędne do życia wszystkich kręgowców, generowane jest przez ośrodki oddechowe zlokalizowane w pniu mózgu i kształtowane przez informacje dopływające z chemo- i mechanoreceptorów płucnych.

Receptory opioidowe i tachykininowe oraz ich ligandy biorą udział w regulacji oddychania i przewodzeniu sygnałów bólowych. Obydwa te systemy wykazują przeciwstawne działanie na kształtowanie wzorca oddechowego. Podstawową funkcją opioidów oraz substancji P (SP) — agonisty receptorów tachykininowych NK_1 — jest, odpowiednio hamowanie i pobudzanie generatora rytmu oddechowego. Masowe rozmieszczenie w organizmie wspomnianych receptorów oraz ich kolokalizacja w tych samych strukturach umożliwia ich wzajemną interakcję. Istnieją dane wskazujące, że opioidy wywierają hamujący wpływ na uwalnianie substancji P zarówno w ośrodkowym układzie nerwowym, jak i w czuciowym unerwieniu dróg oddechowych. Dowiedziono także, że niewielkie dawki SP, nie wykazujące działania nocyceptywnego potęgują przeciwbólowe działanie morfiny. Stąd też można przypuszczać, że jednoczesna aktywacja układu opioidowego i tachykininowego może minimalizować depresję oddychania będącą głównym mankamentem stosowania analgetyków opioidowych.

Celem niniejszej pracy było określenie efektów oddechowych i sercowo-naczyniowych wybranych analogów neuropeptydowych o działaniu przeciwbólowym.

Zadanie to obejmowało:

- ustalenie kształtu wzorca oddechowego inicjowanego systemową iniekcją badanych chimer peptydowych, z uwzględnieniem jego komponent: czasowej i objętościowej;
- określenie typu zmian parametrów sercowo-naczyniowych;
- zbadanie wpływu odcięcia dróg dośrodkowych nerwu błędnego, wspólnego obwodowego ogniwa kontroli napędu oddechowo-sercowego, na reakcje indukowane przez peptydy;

- ocenę stopnia udziału receptorów opioidowych i tachykininowych NK₁ w obserwowanych odpowiedziach.

Przedmiotem badań były: (i) AWL3106 — chimera peptydowa zbudowana z dwóch farmakoforów będących agonistami: receptorów opioidowych (dermorfiny) oraz tachykininowych NK₁ (substancji P₇₋₁₁) oraz (ii) bifalina — peptyd złożony z dwóch aktywnych fragmentów enkefaliny. Doświadczenia przeprowadzono na szczurach stada Wistar, spontanicznie oddychających, w narkozie uretanowo-chloralozowej.

Jednoczesna aktywacja receptorów opioidowych μ oraz tachykininowych NK₁ przez dożylnie podanie chimery peptydowej AWL3106 wywoływała bezdech, a wznowione po nim oddychanie charakteryzowało się zmniejszoną częstością (f) i zwiększoną objętością (V_T). Zmianom tym towarzyszył spadek ciśnienia tętniczego krwi.

Bezdech oraz zwolnienie oddychania indukowane przez AWL3106 zależne było od zachowanej aferencji w nerwie błędnym natomiast wzrost V_T oraz spadek ciśnienia tętniczego krwi zachodziły poza jej udziałem.

Blokady receptorów opioidowych naloksonem i tachykininowych NK₁ za pomocą nieprzechodzącego przez barierę krew/mózg SR140333 wykazały, że obecność bezdechu była wynikiem pobudzenia receptorów opioidowych μ nerwu błędnego, zaś wzrost objętości oddechowej stanowił prawdopodobnie efekt wypadkowy aktywacji receptorów opioidowych w obrębie krążenia płucnego oraz receptorów tachykininowych NK₁ także poza obszarem unerwianym przez nerw błędny.

Spadek ciśnienia tętniczego krwi był rezultatem zarówno pobudzenia obwodowych receptorów opioidowych zlokalizowanych w płucach jak i tachykininowych NK₁, obecnych w śródbłonku naczyń krwionośnych.

Dermorfina — farmakofor opioidowy peptydu AWL3106 — podana obwodowo w małych dawkach działała pobudzająco, natomiast jej większe dawki wykazywały depresyjny wpływ na czasową składową wzorca oddechowego.

Dośrodkową drogę dla obserwowanych po iniekcji dermorfiny zmian: bezdechu, wzrostu objętości oddechowej, zwolnieniu rytmu serca, a także spadku ciśnienia tętniczego krwi stanowił nerw błędny. Wymienione efekty iniekcji tego heptapeptydu zależały od pobudzenia receptorów opioidowych w obszarze kontrolowanym przez nerw błędny.

Tachykininowy komponent chimery AWL3106 — AWL2077, podany dożylnie powodował zależne od aferencji wagalnej: wzrost objętości oddechowej, zwolnienie oddychania i akcji serca, oraz zachodzące poza kontrolą nerwu błędnego: początkowe, prowadzące do depresji wentylacji, obniżenie objętości oddechowej oraz spadek ciśnienia tętniczego krwi.

Natomiast jednoczesne podanie wchodzących w skład AWL3106 agonistów receptorów opioidowych μ i tachykininowych NK_1 , odpowiednio dermorfiny i AWL2077, w mniejszym stopniu niż badana chimera wpływało na czasową składową wzorca oddechowego bez zmian objętości oddechowej. Indukowane przez mieszaninę ww. agonistów zmiany ciśnienia tętniczego krwi, obejmujące przejściową hipotensję z następowym krótkotrwałym wzrostem ciśnienia krwi powyżej wartości początkowej oraz ponowny, maksymalny spadek wartości. Sekwencja tych zmian była podobna do odpowiedzi obserwowanej po AWL2077. Zwolnienie rytmu serca prezentowało dwufazowy charakter: bezpośrednie, krótkotrwałe obniżenie częstości z następowym powrotem tego parametru do wartości początkowej, po czym rytm serca ponownie zwalniał osiągając poziom wyjściowy przed końcem obserwacji.

Dożylna iniekcja bifaliny wywoływała depresję oddechową obejmującą bezdech, a wznowione po nim oddychanie charakteryzowało się przejściowym zmniejszeniem wentylacji minutowej, zmniejszoną częstością oraz zwiększoną objętością oddechową. Zmianom tym towarzyszył znaczny spadek ciśnienia tętniczego krwi oraz zwolnienie rytmu serca. Powyższe efekty zależne były od zachowanej aferencji wagalnej.

Aktywacja receptorów δ przez bifalinę nie wykazywała istotnego wpływu na odpowiedź objętościową wzorca oddechowego, uczestniczyła jednak w pogłębianiu depresji rytmu

oddechowego poprzez nasilenie czasu trwania bezdechów i wydłużenie czasu wydechu, oraz nasilała spadek ciśnienia tętniczego krwi i zwolnienie rytmu serca.

Przeprowadzone badania wykazały, że:

- Bezdech był skutkiem pobudzenia receptorów opioidowych μ .
- Stymulacja receptorów opioidowych δ przez bifalinę nasilała depresję czasowej składowej wzorca oddechowego.
- Warunkiem pojawienia się bezdechu, zwolnienia rytmu oddechowego, wzrostu objętości oddechowej, jak również spadku ciśnienia tętniczego krwi — efektów indukowanych agonistami receptorów opioidowych μ — była zachowana aferentacja wagalna z płuc.
- Pobudzenie receptorów opioidowych μ i tachykininowych NK_1 przez peptyd hybrydowy AWL3106 prowadziło do wzrostu objętości oddechowej, jednak efekt ten nie był obserwowany po jednoczesnym pobudzeniu tych receptorów przez substancje pełniące role poszczególnych farmakoforów.
- Zwiększenie objętości oddechowej indukowane przez AWL3106 obecne po przecięciu nerwów błędnych powyżej zwojów guzkowych można przypisać efektom pobudzenia receptorów tachykininowych NK_1 zlokalizowanych w nerwie zatokowym.
- Spadek ciśnienia krwi obserwowany po podaniu AWL3106 był efektem przede wszystkim obwodowego działania tego peptydu.

Reakcje indukowane przez związki hybrydowe działające na dwie odmienne grupy receptorów nie stanowią prostego sumarycznego działania wynikającego z aktywności poszczególnych substancji wchodzących w ich skład, są li tylko efektem działania nowej molekuly charakteryzującej się odmiennymi właściwościami farmakokinetycznymi i farmakodynamicznymi. Wpływ na końcowy efekt może mieć również szereg dyskretnych

interakcji zachodzących między funkcjonowaniem poszczególnych receptorów oraz szlaków przekazywania sygnału, tak między- lub wewnątrzkomórkowego jak i do odpowiednich struktur nerwowych zawiadujących poszczególnymi funkcjami.