

ARTYKUŁ POGLĄDOWY/REVIEW PAPER

Wpłynęło/Submitted: 25.02.2009 • Zaakceptowano/Accepted: 01.06.2009

© Akademia Medycyny

Anatomy and physiology of neuromuscular transmission - part III

Anatomia i fizjologia przewodnictwa nerwowo-mięśniowego - część III

Leo H.D.J. Booi¹, Leon Drobnik²

¹ Department of Anaesthesiology, Radboud University Nijmegen, Netherlands

² Department of Anaesthesiology and Intensive Therapy, Poznan University of Medical Sciences, Poland



Summary

Transformation of the voluntary act of the mind into movements in human, have been subject of discussion among ancient philosophers. Development of natural sciences, especially in last decades, enabled detailed studies and rapid accumulation of information on structure and function of the neuromuscular junction. Molecular changes of the acetylcholine receptors or other nanostructures of the motor nerve endplate induce muscular dysfunctions of clinical significance, demanding searching for best therapeutic solutions and adequate approach to general anaesthesia. *Anestezjologia i Ratownictwo 2010; 4: 431-449.*

Keywords: receptor, muscarin-acetylcholine receptor, nicotin-acetylcholine receptor, acetylcholine, acetylcholinesterase, neuro-muscular junction, motor endplate, ion channel, motoric nerve, synapse, synaptic vesicle, muscle, muscle fiber, actin-myosin, action potential, rest potential, depolarization, activation

Streszczenie

Sposób przenoszenia aktu woli na wykonywanie ruchów przez człowieka był przedmiotem rozważań starożytnych filozofów. Rozwój nauk przyrodniczych, zwłaszcza w ostatnich dziesięcioleciach, pozwolił na dokładne poznanie struktury i funkcji złącza nerwowo-mięśniowego w najdrobniejszych szczegółach. Zmiany molekularne, jakie zachodzą w receptorach acetylocholino i innych strukturach motorycznej płytki końcowej powodują zaburzenia funkcjonowania mięśni o znaczeniu klinicznym, wymagającym poszukiwania najlepszych sposobów leczenia tych zaburzeń oraz właściwego podejścia w czasie stosowania znieczulenia. *Anestezjologia i Ratownictwo 2010; 4: 431-449.*

Słowa kluczowe: receptory muskarynowe, receptory nikotynowe, acetylocholina, esteraza acetylocholino, złącze nerwo-mięśniowe, końcowa płytka motoryczna, kanał jonowy, nerwy ruchowe, synapsa, pęcherzyki synaptyczne, mięśnie, włókna mięśniowe, aktyna-miozyna, potencjał czynnościowy, potencjał spoczynkowy, depolaryzacja, pobudzenie

5. Acetylcholine

Ach is the oldest known chemical neurotransmitter. Although it was first synthesised in 1867, was Ach at first isolated by Dale and Ewins in 1913 [241]. Loewi in 1921 suggested that a chemical, which he called “*vagusstoff*”, was released from the vagus of the first heart upon stimulation and transferred to the second, denervated heart [242]. Dale and his chemist colleague Harold Dudley did find acetylcholine as a natural constituent of the mammalian body. Ach has an ester structure (Figure 22).

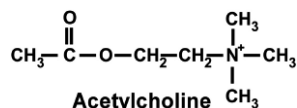


Figure 22. Acetylcholine structure
Rycina 22. Budowa acetylocholin

Ach has widespread actions as a neurotransmitter in the central, peripheral, and autonomic nervous systems. Within the mammalian central nervous system, cholinergic neurons sustain or modulate diverse cognitive and appetitive processes including arousal, attention, memory, and reward. Ach also serves as neurotransmitter at the mammalian NMJ and thus is essential for neuronal control of muscular contraction. Finally, Ach mediates chemical signalling by pre-ganglionic neurons in both the sympathetic and parasympathetic nervous system and is a neurotransmitter at parasympathetic postganglionic synapses, thereby controlling the output of many organs, including the heart, lungs, exocrine and endocrine glands, gut, and bladder.

5.1. The synthesis and storage of acetylcholine

Ach is synthesized in the nerve terminal from choline and acetyl-Coenzyme A by the enzyme choline acetyl-transferase (ChAT) [243]. Glucose metabolism and mitochondrial acetyl-CoA production can provide the needed acetyl moiety for presynaptic Ach synthesis. Choline is a product of lipid metabolism and lipid turnover. Choline is taken up in the nerve cell via the high-affinity Na⁺-dependent choline transporter. After synthesis Ach is loaded into synaptic vesicles by the VAChT [244] (see section 4.1.5.2.) (Figure 23). The VAChT is located at the vesicle membrane and

5. Acetylocholina

Ach jest najstarszym znanym neuroprzekaźnikiem. Pomimo że była zsyntetyzowana już w 1867, po raz pierwszy została wyizolowana przez Dale i Ewinsa w roku 1913 [241]. Loewi w roku 1921 sugerował, że substancja chemiczna uwalniana z nerwu błędnego, którą nazwał “substancją błędną”, jest uwalniana z zakończeń nerwu błędnego w sercu i przeniesiona do serca odnerwionego, powoduje przyspieszenie jego rytmu [242]. Dale i jego kolega chemik Harold Dudley stwierdzili, że acetylocholina jest naturalnym składnikiem organizmów ssaków. Ach jest estrem (patrz rycina 22).

Ach ma szerokie działanie neuroprzekaźnikowe w układzie nerwowym ośrodkowym, obwodowym i autonomicznym. Neurony cholinergiczne uczestniczą lub są modulatorami procesów poznawczych i uwagi, jak pobudzenie, czuwanie, pamięć i nagroda. Acetylocholina działa także jako neuroprzekaźnik w złączu nerwowo-mięśniowym, jest więc niezbędna do wywołania skurczu mięśnia. Ponadto Ach jest sygnałem chemicznym neuronów przedwojowych, tak w układzie współczulnym jak i przywspółczulnym. Jest też neuroprzekaźnikiem w synapsach pozazwojowych, regulując w ten sposób wydolność wielu narządów, jak serce, płuca, gruczoły wewnątrz- i wewnątrzwydzielnicze, jelita i pęcherz moczowy.

5.1. Synteza i magazynowanie acetylocholin

Acetylocholina jest syntetyzowana w zakończeniach nerwowych z choliną i acetylo-koenzymu A przez enzym acetylotransferazę (ChAT) [243]. Metabolizm glukozy i mitochondrialne wytwarzanie zapewnia dostateczną ilość substratu dla presynaptycznej syntezy Ach. Cholina pochodzi z metabolizmu i przemian lipidowych. Cholina jest wprowadzana do komórek nerwowych poprzez wysoce swoisty transporter cholin, zależny od jonów Na⁺. Po zsyntetyzowaniu Ach jest odkładana do pęcherzyków synaptycznych przez VAChT [244] (patrz rozdział 4.1.5.2. i rycina 23). Pęcherzykowa transferaza Ach, która mieści się w błonie pęcherzyka i “wymienia” Ach na protony, jest białkiem wytwarzanym przy ekspresji genu UNC [245]. Gen ten zawiera też informację ChAT i nazywany jest “cholinergicznym miejscem genowym”. Białka ChAT i VAChT są ekspozowane jednocześnie. Białko VAChT ma 12 domen przezbłonowych, z cytoplazmatycznymi (tj. pozapęcherzykowymi) końcówkami N- i C. Protony są wpompowywane do

essentially “exchanges” Ach for protons, it is a protein expressed by the UNC-17 gene [245]. This gene also holds the information for the ChAT and is called the “cholinergic gene locus”. ChAT and VAChT proteins are co-expressed. VAChT has 12 trans-membrane domains, with cytoplasmic (i.e., extra-vesicular) N- and C-termini. Protons are pumped into vesicles by V-ATP-ase. ChAT and VAChT are co-expressed from a partly shared gene the “cholinergic gene locus”. After release is Ach metabolised by AchE and the choline is recycled. Choline is taken up into the presynaptic terminals by the Na^+ -dependent, high-affinity choline transporter in the plasma membrane and subsequently used for Ach synthesis. The limiting step for Ach synthesis is the supply of choline. Choline is a product of lipid metabolism and lipid turnover in the cell. The docking and priming of synaptic vesicles, and their calcium-stimulated fusion with the cell membrane are all general processes for all neurotransmitters contained in vesicles.

Ach within the vesicles is mostly in free solution. Ca^{2+} and Mg^{2+} are also concentrated within the vesicle, which further hold ATP.

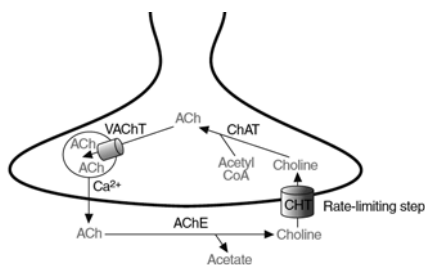


Figure 23. The Acetylcholine cycle
Rycina 23. Krążenie acetylocholin

5.2. The release of acetylcholine

Ach is released in quanta delivered by vesicle fusion with the prejunctional membrane. The average quantal content is 10-22.000 molecules of Ach [246]. This process is driven by exocytosis and endocytosis (see sections 4.1.4.3. and 4.1.4.4.). The release process is initiated by an increase in the terminal calcium concentration following depolarization of the terminal membrane [247]. When a depolarizing voltage from sodium influx opens Ca^{2+} -channels, inflow of calcium occurs and causes activation of the release of Ach [248]. The calcium concentration greatly influences the number of quanta released by the nerve [249]. The calcium current persists until the membrane

pęcherzyka przez V-ATP-azę. Białka ChAT i VAChT są wyrażane przez wspólnie dzielone “cholinergiczne miejsce genowe”. Po uwolnieniu Ach jest rozkładana przez AchE a cholina zostaje użyta ponownie. Cholina jest wprowadzana do zakończeń presynaptycznych przez zależny od Na^+ , wysoce swoisty transporter choliny w błonie plazmatycznej, a następnie użyta do syntezy Ach. Czynnikiem ograniczającym syntezę Ach może być dopływ choliny. Cholina jest produktem rozkładu lipidów i przemian lipidowych. Deponowanie i przygotowywanie pęcherzyków synaptycznych i ich zlewanie się z błoną, pod wpływem wapnia, stanowią uogólnione zjawisko, dotyczące wszystkich neuroprzekazników zawartych w pęcherzykach.

Ach występuje w pęcherzykach w postaci rozpuszczonej. Jony Ca^{2+} i Mg^{2+} są także gromadzone w pęcherzykach, podobnie jak i ATP.

5.2. Uwalnianie acetylocholin

Ach uwalniana jest w porcjach dostarczonych przez zlewające się z błoną presynaptyczną pęcherzyki. Przeciętna wielkość porcji wynosi 10-22.000 cząsteczek Ach [246]. Proces ten jest napędzany przez egzocytozę i endocytozę (patrz rozdziały: 4.1.4.3. i 4.1.4.4.). Proces uwalniania rozpoczyna się wraz z wzrostem stężenia wapnia w zakończeniu, jaki następuje po depolaryzacji błony krańcowej [247]. Kiedy napięcie depolaryzacji, wynikające z wpływu jonów sodowych, otwiera kanały Ca^{2+} , następuje wpływ wapnia i wyzwolenie mechanizmu uwalniania Ach [248]. Stężenie wapnia wpływa w istotny sposób na liczbę porcji uwalnianych przez nerw [249]. Prąd wapniowy utrzymuje się tak długo, dopóki potencjał błony nie powróci do stanu wyjściowego, przywrócony wstecznym prądem jonów potasowych z wnętrza komórki. Wapń wpływa do komórki przy każdym pobudzeniu, lecz nie może być tak szybko wydany, jak pobudzony jest nerw i gromadzi się w komórce. Wyższe od prawidłowych stężenia nieorganicznych jonów dwuwartościowych magnezu, kadmu i manganu mogą blokować napływ wapnia przez bramkowane napięciem kanały wapniowe typu P i znacznie upośledzić przewodzenie nerwowo-mięśniowe. Acetylocholina może kontrolować samouwalnianie z zakończeń nerwowych, poprzez aktywację receptorów presynaptycznych (nikotynowych lub muskarynowych) [250]. Okołosynaptyczne komórki Schwanna także odpowiadają na Ach i synaptyczny wzrost stężenia Ca^{2+} , pochodzącego z wewnątrzkomórkowych rezerw, w następstwie pobudzenia receptorów muskarowych,

potential is returned to normal by outward fluxes of potassium from inside the nerve cell. Calcium enters the nerve with every stimulus, but it cannot be excreted as quickly as the nerve is stimulated and it accumulates. Higher than normal concentrations of the bivalent inorganic cations magnesium, cadmium, and manganese can block calcium entry through voltage-gated P-type Ca^{2+} -channels and profoundly impair NMT. Ach can control its own release from nerve terminals through activation of presynaptic (nicotinic or muscarinic) receptors [250]. Also, perisynaptic Schwann cells respond to Ach and to synaptic activity with Ca^{2+} elevation derived from their intracellular Ca^{2+} stores, and that depends on muscarinic, not nicotinic, receptor activation [251,252]. It is possible to finely control transmitter release at individual nerve terminals because of the presence of metabotropic receptors that modulate calcium entry and exocytosis by regulating the Ca^{2+} -channels themselves, the activity of other ion channels and different intracellular regulatory pathways. There is a functional link between m-AchRs and the activity of serine-threonine kinases in the control of transmitter release. M-AchRs modulate transmitter release by coupling to serine-threonine kinases PKC and PKA. Both kinases stimulate release, though in normal synaptic function only PKA is active. M1-mediated increased PKC activity-dependent potentiation of release or an M2-mediated decreased PKA activity-dependent reduction of release [253].

Schwann cells synthesize and secrete trophic factors, such as neuregulin and nerve growth factor, which promote motor neuron survival, motor neuron growth, and Schwann cell process extension [254-256].

The amount of transmitter released per vesicle can be regulated either before or after fusion. Regulation after vesicle fusion involves closure of the fusion pore before the full release of vesicle contents (*"kiss-and-run"*). Regulation of quantal size before fusion with the plasma membrane is due directly to changes in vesicle filling. Transmitter recycling and the cytosolic concentration of transmitter have very important roles in vesicle filling. In the case of Ach, hydrolysis by acetylcholinesterase terminates signalling, and the product choline is then recycled into the nerve terminal. The choline transporter depends on Na^+ and has an important role in recycling of Ach. The choline transporter as well as the glycine transporters undergo activity-dependent trafficking at the nerve

ale nie nikotynowych [251,252]. Możliwa jest też końcowa kontrola uwalniania neuroprzekaźnika z zakończenia pojedynczego nerwu, ze względu na obecność receptora metabotropowego, który moduluje wpływ wapnia i egzocytozę, regulując same kanały Ca^{2+} , aktywność innych kanałów jonowych oraz różne szlaki sterowania wewnątrzkomórkowego. Istnieje więc czynnościowa pomiędzy m-AchR a kinazą seryna-treonina w regulowaniu uwalniania neuroprzekaźnika. Muskarynowe AchR modulują uwalnianie neuroprzekaźnika po sprzężeniu z kinazami seryna-treonina PKC i PKA. Obie kinazy stymulują uwalnianie, chociaż przy prawidłowej czynności synapsy aktywna jest tylko PKA. Wzrost natężenia uwalniania, zależny od zwiększonej za pośrednictwem M1 aktywności PKC natomiast ograniczenie uwalniania, spowodowane jest spadkiem aktywności PKA, w którym pośredniczy M2 [253]. Komórki Schwanna syntetyzują i wydzielają czynniki wzrostu, wspierające przeżycie neuronów ruchowych, wzrost neuronów ruchowych i rozwijanie się wypustek komórek Schwanna [254-256].

Ilość neuroprzekaźnika uwalniania przez jeden pęcherzyk, może być regulowana przed lub po jego fuzji. Regulacja po fuzji pęcherzyka obejmuje zamykanie szczeliny fuzyjnej przed całkowitym uwolnieniem zawartości pęcherzyka (*"pocałuj i uciekaj"*). Regulacja wielkości porcji przed połączeniem się z błoną komórkową polega na zmianach w napełnianiu pęcherzyka. Istotne znaczenie dla napełniania pęcherzyka ma krążenie zwrotne neuroprzekaźnika i jego stężenie w cytosolu. W tym przypadku hydroliza Ach przez acetylocholinoesterazę kończy sygnalizację a produkt końcowy cholina powraca do zakończenia nerwowego. Transporter choliny jest zależny od Na^+ i spełnia ważną funkcję w wychwycie zwrotnym Ach. Transporter choliny jak i transporter glicyny podlegają w zakończeniu nerwowym przemieszczeniom, zależnym od aktywności [257]. Transporter choliny jest umieszczony przeważnie w podzespole pęcherzyków synaptycznych i ulega egzocytozie dokładnie w tym momencie, kiedy potrzebne jest zwrotne wchłanianie choliny. Transport do pęcherzyka odbywa się na ogół na zasadzie wymiany jonów H^+ z wnętrza pęcherzyka na neuroprzekaźnik z cytoplazmy, tym samym więc zależy od gradientu elektrochemicznego jonu wodoru, wytwarzanego przez H^+ -ATP-azę pęcherzykową. Internalizowane pęcherzyki zawierają milimolarne stężenia Na^+ oraz Cl^- , które prawdopodobnie opuszczają pęcherzyk, kiedy wchodzi H^+ i gromadzi się neuroprzekaźnik. Pęcherzyki duże,

terminal [257]. The choline transporter in particular resides on a subset of synaptic vesicles and thus undergoes exocytosis at precisely the time when choline uptake is needed. Transport into the vesicle generally involves the exchange of luminal H^+ for cytoplasmic transmitter and hence depends on a H^+ electrochemical gradient, which is produced by the vacuolar H^+ -ATPase. Internalizing synaptic vesicles contain mmolar concentrations of Na^+ and Cl^- , which presumably leave the vesicle as H^+ enter and transmitter accumulates. The larger vesicles, termed VP1, contain 3- to 5-fold more Ach than the smaller VP2 vesicles. After stimulation VP2 is slowly replaced by VP1. The membrane of VP2 appears to be twice the thickness of VP1, suggesting that the vesicles may indeed simply swell with transmitter accumulation.

ATP is co-released with Ach from the same vesicle. It is immediately degraded in the synaptic cleft to adenosine. This adenosine binds to presynaptic purine receptors which play a modulating role in vesicle filling [258].

5.3. The metabolism and reuptake of acetylcholine

The action of Ach is terminated by enzymatic hydrolysis of the neurotransmitter by AchE in the synaptic cleft. Only approximately 50% of the Ach released is immediately hydrolysed before it reaches the n-AchR. It is immediately hydrolysed by AchE. Also after dissociation from the receptor is Ach hydrolysed. This enzyme is produced in the muscle, excreted at the motor endplate and bound by thin stalks of collagen to the basal lamina in the synaptic cleft. Under normal circumstances, a molecule of Ach reacts with only one receptor before it is hydrolysed into choline and acetate. The resulting choline is transported back into the presynaptic neuron by a high affinity plasma membrane choline transporter (AchT, or ChT) and re-used for synthesis of Ach. Chronic inhibition of AchE occurs by organophosphate pesticides, by nerve gases like sarin or tabun, or by chronic pyridostigmine therapy given as prophylaxis against nerve gas poisoning [259,260].

Also butyrylcholinesterase (BchE) is present at mature NMJs and is involved in the hydrolysis of Ach. It is probably located on perisynaptic Schwann cells and possibly involved in a presynaptic modulatory step of the release process [261].

Ach itself is not recycled and the transport of choline is rate limiting in the synthesis of Ach. Therefore

określane jako VP1, zawierają 3 do 5 razy więcej Ach aniżeli małe pęcherzyki VP2. W następstwie pobudzenia VP2 są wolno zastępowane przez VP1. Błona VP2 wydaje się być dwa razy grubsza od VP1, sugerując, że pęcherzyki te mogą rzeczywiście ulegać po prostu obrzękowi, w miarę gromadzenia neuroprzekaźnika.

ATP jest uwalnianie wspólnie z Ach z tych samych pęcherzyków, rozkładane natychmiast do adenozyiny w szczeliny synaptycznej. Adenozyina wiąże się z presynaptycznymi receptorami purynowymi, modulującymi napełnianie pęcherzyków [258].

5.3. Metabolizm i zwrotny wychwyt acetylocholin

Działanie Ach kończy się enzymatyczną hydrolizą neuroprzekaźnika w szczeliny synaptycznej. Tylko niecałe 50% Ach ulega rozkładowi, zanim dotrze do nikotynowych receptorów Ach. Hydroliza pod wpływem AchE jest natychmiastowa. Ach uwalniająca się od receptora także ulega hydrolizie. Enzym ten jest wytwarzany w mięśniu, wydzielany jest w płytce motorycznej i cienkimi beleczkami kolagenu przymocowany jest do błony podstawowej w szczeliny synaptycznej. W normalnych warunkach cząsteczka Ach wiąże się tylko z jednym receptorem, zanim zostaje rozłożona do cholin i octanu. Uwolniona w procesie hydrolizy cholina jest wstecznie przenoszona do neuronu presynaptycznego za pomocą wysoce swoistego transportera w błonie plazmatycznej (AchT lub ChT) i ponownie użyta do syntezy Ach. Przewlekłe hamowanie AchE może być następstwem działania fosfoorganicznych pestycydów, gazów porażających układ nerwowy jak sarzyn lub tabun, albo też długotrwałego stosowania pirydostrygminy, jako czynnika zapobiegającego zatruciu gazami porażającymi układ nerwowy [259,260].

W dojrzałych złączach nerwowo-mięśniowych występuje także butyrylocholinoesteraza (BchE), uczestnicząca w hydrolizie Ach. Prawdopodobnie jest ona umiejscowiona w presynaptycznych komórkach Schwanna i uczestniczy w modulacji procesu uwalniania [261].

Sama Ach nie podlega wychwytowi zwrotnemu a transport cholin jest procesem określającym wielkość jej syntezy. Tym samym dostarczanie cholin musi się zwiększać w okresach wzmożonego uwalniania, by nie doszło do zubożenia pęcherzyków presynaptycznych w zapasy Ach. Zewnątrzkomórkowa koncentracja cholin wysyca ChT, nawet jeśli nie jest uwalniana i hydrolizowana Ach; wobec czego jedyną drogę zwiększenia przyswajania cholin za pośrednictwem ChT,

the supply of choline must increase during periods of enhanced Ach release, otherwise the presynaptic vesicle stores of Ach will become depleted. Extracellular concentrations of choline saturate ChT even in the absence of Ach release and hydrolysis; therefore, the only way to enhance ChT-mediated choline uptake is to increase the number of functional ChTs at the presynaptic plasma membrane.

Choline undergoes active recycling, either directly back into the nerve terminal or indirectly into glia. After exocytotic release, Ach is cleared from the synapse by hydrolysis by AchE, and the product choline is then recycled into the nerve terminal. Two transport activities for choline have been described in neurons: a ubiquitous, low-affinity, sodium-independent transport system that is inhibited by hemicholinium-3; and a high-affinity, sodium and chloride dependent HC-3-sensitive system. The latter (CHT-1) is found responsible for providing choline for Ach synthesis and is located in intracellular vesicular structures. Release of Ach into the synaptic cleft enhances trafficking of CHT1 to the plasma membrane. The reuptake of choline from the synaptic cleft is thus exquisitely coupled to Ach synthesis and its transporter is dependent on co-transport of both Na^+ and Cl^- and resides on a subset of synaptic vesicles and thus undergoes exocytosis at precisely the time when choline uptake is needed [262]. The choline transporter undergoes activity-dependent trafficking at the nerve terminal [263]. The ChT is a 13-transmembrane domain protein with a short N-terminus oriented extra-cellular, and an extended, C-terminus oriented into the cytoplasm. CHT1 is sequestered into clathrin-coated pits for internalization and this limits the quantity of CHT1 protein available at the cell surface to transport choline [264]. After internalization in clathrin-coated pits, CHT1 seems to be directed to early endosomes. As CHT1 and VAChT are present in the same cellular structures, it is possible that these two transporters share trafficking. The ChT is sodium- and chloride-dependent.

Vesicular neurotransmitter transporters package Ach into the lumen of secretory vesicles to allow new exocytotic release [265]. The transporter is the vesicular acetylcholine transporter (VAChT). Vesicular transporter expression can regulate the amount of neurotransmitter contained in secretory vesicles and thus may influence quantal size.

stanowi zwiększenie liczby czynnych transporterów choliny w presynaptycznej błonie plazmatycznej.

Cholina podlega zwrotnemu wychytowi albo bezpośrednio wstecznie do zakończeń nerwowych, albo drogą pośrednią poprzez glej. Po wyrzuceniu poza komórkę, Ach jest usuwana z synapsy poprzez hydrolizę dokonywaną przez enzym AchE, a cholina jako produkt końcowy trafia ponownie do zakończenia nerwowego. Opisano dwa systemy aktywnego transportu choliny w neuronach: wszechobecny, mało swoisty układ transportowy, niezależny od sodu, blokowany przez hemicholinium-3 (HC-3); i wysoko swoisty, zależny od sodu i chloru układ, wrażliwy na HC-3. Ten ostatni transporter choliny (CHT-1) okazuje się być odpowiedzialny za dostarczanie choliny do syntezy Ach i jest rozmieszczony w wewnątrzkomórkowych strukturach pęcherzykowych. Uwolnienie Ach do szczeliny synaptycznej nasila przemieszczanie się CHT1 do błony plazmatycznej. Zwrotny wychyt choliny ze szczeliny synaptycznej jest więc wybiórczo sprzężony z syntezą Ach a jej transporter jest zależny od równoległego transportu Na^+ oraz Cl^- i mieści się w skupisku pęcherzyków, z którymi ulega wyrzuceniu na zewnątrz dokładnie w tym czasie, w którym potrzebny jest zwrotny wychyt choliny [262]. Transporter choliny przemieszcza się w zakończeniu nerwowym zależnie od swej aktywności [263]. Transporter choliny jest trzynastokrotnie przebijającą błonę domeną białka, z krótką końcówką azotową, wychodzącą poza komórkę, i wyciągniętym końcem węglowym, zanurzonym w cytoplazmie. Transporter CHT1 jest wydzielany do wyścielonych klatryną jam, w celu internalizacji. Ogranicza to ilość białka CHT1 dostępnego dla przenoszenia choliny na powierzchni błony plazmatycznej [264]. Po wchłonięciu do środka komórki w wymszczonych klatryną jamkach, CHT1 wydaje się być kierowane do doraźnych endosomów. Ponieważ CHT1 i VAChT obecne są w tych samych strukturach komórkowych, możliwym jest, że oba te transportery dzielą się przenoszeniem. Transporter choliny jest zależny od jonów chlorkowych i sodowych.

Transportery pęcherzykowe neuroprzekaźników upakowują Ach w świetle pęcherzyków sekrecyjnych, umożliwiając kolejne uwolnienie poza komórkę [265]. Przenośnik stanowi pęcherzykowy transporter acetylochliny (VAChT). Ekspresja transportera pęcherzykowego może regulować ilość neuroprzekaźnika, znajdującego się w pęcherzykach sekrecyjnych i tym samym określać wielkość porcji (kwantów).

Calcium

Calcium is an important messenger molecule. Rapid, transient changes in Ca^{2+} concentration directly control muscle contraction, cell locomotion, hormonal secretion, and neural transmission. It interacts with thousands of proteins, each harbouring one or more evolutionarily conserved Ca^{2+} -binding motifs. Sustained, macroscopic gradients of free Ca^{2+} concentration occur across cell surface and intracellular membranes of organelles. A 10^4 -fold Ca^{2+} gradient exists across the plasma membrane that partitions the extracellular space from the cytosol. A similar gradient is found between the lumen of the endoplasmic and sarcoplasmic reticulum and the cytosol. Many Ca^{2+} signaling cascades are initiated by rapid mobilization of Ca^{2+} among membrane-bound compartments. Ca^{2+} entry from the exterior of the cell is mediated by diverse Ca^{2+} -permeant channels and their gating mechanisms, which include voltage, ligands, mechanical force, temperature change, pH, reactive oxygen species, and intracellular signals arising from G protein coupling receptor activation, and even depletion of the endoplasmic reticulum/sarcoplasmic reticulum store.

6. Disorders in the functioning of the neuromuscular junction

There are various disorders of the NMJ with possible implications for the anaesthetist. The most common is antibody mediated damage or down regulation of ion channels or receptors, resulting in myasthenia gravis. A second important group of disorders are the Congenital Myasthenic Syndromes CMS caused by mutations in genes which encode NMJ proteins [266]. Good reviews on these disorders have recently been published [267,268]. Many congenital myasthenic syndromes stem from n-AchR subunits mutations or in mutations in the proteins involved in the formation and maintenance of the NMJ [269]. Mutations in rapsyn are a major cause.

Over 340 human genes are thought to encode ion channels, and mutations in over 60 ion channel genes are known to cause human diseases [270] (Table 1).

Some plant extracts and animal poisons inhibit SNARE-complex formation and thus can paralyse muscles by reduced vesicle exocytosis [271]. Botulinum toxin and tetanus neurotoxins selectively block release of Ach vesicles from the nerve terminal [272,273].

Wapń

Wapń jest ważnym przekaźnikiem wewnątrzkomórkowym. Szybkie, przejściowe zmiany stężenia Ca^{2+} bezpośrednio wpływają na regulację skurczu mięśnia, ruch komórek, wydzielanie hormonów i przekaźnictwo nerwowe. Reaguje z tysiącami białek, z których każde zawiera jeden lub więcej zachowanych przez ewolucję motywów wiązania Ca^{2+} . Utrzymuje się wysoki gradient stężenia wolnego Ca^{2+} , między powierzchnią komórki a błonami organelli wewnątrzkomórkowych. Po obu stronach błony plazmatycznej, oddzielającej przestrzeń zewnątrzkomórkową od cytosolu, istnieje różnica stężeń Ca^{2+} rzędu 10^4 . Podobnej wielkości gradient znalaziono między światłem siatki endoplazmatycznej i sarkoplazmy a cytosolem. Szereg kaskad sygnalizacyjnych Ca^{2+} jest zapoczątkowanych nagłym uruchomieniem wapnia w przylegających do błony przedziałach. Wejście Ca^{2+} z zewnątrz komórki umożliwiają różne kanały przepuszczalne dla Ca^{2+} i ich mechanizmy bramkowania, do których zaliczają się napięcie elektryczne, ligandy, siły mechaniczne, zmiany temperatury, pH, rodniki tlenowe a także sygnalizacja wewnątrzkomórkowa, wychodząca z receptora aktywacji, związanego z białkiem G, a nawet zmniejszenie zapasów wapnia siatce endoplazmatycznej i sarkolemie.

6. Zaburzenia czynności złącza nerwowo-mięśniowego

Istnieją różne zaburzenia czynności ZNM, które mają potencjalne znaczenie dla anestezjologa. Najczęstszym jest spowodowane przez przeciwciała uszkodzenie lub ograniczenie sprawności kanałów jonowych lub receptorów, prowadzące do nużliwości mięśni (*myasthenia gravis*). Drugą ważną grupę zaburzeń stanowią wrodzone zespoły miasteniczne (*Congenital Myasthenic Syndrom* - CMS), spowodowane mutacjami genów, odpowiedzialnych za kodowanie białek ZNM [266]. Ostatnio ukazały się na ten temat dobre publikacje przeglądowe [267,268]. Szereg wrodzonych zespołów miastenicznych zasada się na mutacjach podjednostek n-AchR lub mutacjach białek, odpowiedzialnych za formowanie i utrzymywanie złącza nerwowo-mięśniowego [269]. Najczęstszą przyczynę stanowią mutacje rapsyny.

Uważa się, że ponad 340 ludzkich genów zawiera kod kanałów jonowych, a mutacje w 60 genach kanałów jonowych rozpoznano jako przyczynę ludzkich chorób [270] (*patrz tabela 1*).

Table 1. Channels affected by neuromuscular disease
Tabela 1. Wrodzone dysfunkcje kanałów jonowych

Chanel Rodzaj kanału	Channelopathy Choroba niesprawnych kanałów	Change of Ion Fluxes Zmiany przepływu jonów
<i>Channelopathies caused by the formation of channel genes</i> <i>Stany chorobowe wywołane zaburzeniami czynności kanałów jonowych</i>		
Muscle voltage-gated Na ⁺ channels Kanały Na ⁺ bramkowane napięciem	Hyperkalemic periodic paralysis Okresowe porażenie hiperkalemiczne	Sustained inward Na ⁺ fluxes Utrzymany wpływ Na ⁺
	Paramyotonia congenita Paramiotonia wrodzona	Sustained inward Na ⁺ fluxes Utrzymany wpływ Na ⁺
	K ⁺ - aggravated myotonia Miotonia nasilana K ⁺	Sustained inward Na ⁺ fluxes Utrzymany wpływ Na ⁺
Muscle Cl ⁻ channels Mięśniowe kanały Cl ⁻	Thomsen or Becker myotonia congenita Wrodzona miotonia Thomsena lub Beckera	Reduced Cl ⁻ fluxes Zmniejszony przepływ Cl ⁻
	Myotonic dystrophy Dystrofia miotoniczna	Loss of Cl ⁻ fluxes Zanik kanałów Cl ⁻
Muscle AChRs Mięśniowe receptory Ach	Slow channel syndrome Zespół powolnych kanałów	Prolonged depolarization of the muscle membrane Zwolniona depolaryzacja błony mięśniowej
	Fast channel syndrome Zespół szybkich kanałów	Decreased rate of opening of channels Skrócony czas otwarcia kanałów
Muscle voltage-gated Ca ²⁺ channels Mięśniowe kanały Ca ²⁺ bramkowane napięciem	Hypokalemic periodic paralysis Okresowy niedowład hipokalemiczny	Unknown: cell may be depolarized Nieznany: komórka może ulegać depolaryzacji
Muscle ryanodine receptor Ca ²⁺ channels of the SR Kanały Ca ²⁺ receptora rianodyny w SR	Malignant hyperthermia gorączka złośliwa	Increased cytoplasmic Ca ²⁺ leaking out of the SR Zwiększony wpływ Ca ²⁺ do cytoplazmy z SR
Neuronal voltage-gated K ⁺ channels Neuronalne kanały K ⁺ bramkowane napięciem	Episodic ataxia type 1 Sporadyczna ataksja typu I	Reduced K ⁺ effluxes Zmniejszony wpływ K ⁺
Neuronal inward rectifying K ⁺ channels Neuronalny dośrodkowy kanał prostujący K ⁺	Andersen's syndrome Zespół Andersena	Reduced K ⁺ effluxes Zmniejszony wpływ K ⁺
<i>Channelopathies caused by the formation of autoantibodies</i> <i>Zaburzenia czynności kanałów jonowych wywołanych autoprzeciwciałami</i>		
Muscle AChRs Receptory Ach	<i>Myasthenia gravis</i> <i>Myasthenia gravis</i>	Loss of AChRs Utrata receptorów Ach
Neuronal P/Q-type voltage-gated Ca ²⁺ channels Neuronalne kanały Ca ²⁺ bramkowane napięciem typu P/Q	Lambert-Eaton myasthenic syndrome Zespół miasteniczny Lambert-Eatona	Loss of Ca ²⁺ channels for excitation secretion coupling Utrata kanałów Ca ²⁺ sprzęgających pobudzenie z wydzielaniem
Neuronal voltage-gated K ⁺ channels Neuronalne kanały K ⁺ bramkowane napięciem	Acquired neuromyotonia Neuromiotonia nabyta	Loss of K ⁺ channels Utrata kanałów K ⁺

AChRs – Ach receptors; SR – sarcoplasmic reticulum

AChR – receptory acetylocholino, SR – siatka (retikulum) cytoendoplazmatyczna

Clostridial toxins, including botulinum toxin and tetanus neurotoxins, which selectively digest one or all of the SNARE proteins synaptobrevin, synaptosome-associated protein of Mr 25,000 (SNAP-25), and Syntaxin, block exocytosis of the vesicles [274].

Abnormal expression of laminin isoforms induces several muscular dystrophies and congenital myopathies.

6.1. *Myasthenia gravis*

Myasthenia gravis is a disease caused by antibodies directed against the n-AchRs. These antibodies bind to the extracellular regions of the n-AchR, and through complement-mediated lysis and an increase in internalisation, cause a loss of functional n-AchRs. A few patients, often presenting with myasthenic weakness from birth, have been shown to have a genetic disorder, in which mutations of the n-AchR or other proteins involved in neurotransmission have been detected. Approximately 70% of these sero-

Niektóre wyciągi z roślin i toksyn zwierzęcych hamują tworzenie się kompleksów SNARE i w ten sposób, zmniejszając egzocytotę pęcherzyków, powodują porażenie mięśni [271]. Botulina i neurotoksyny tężcowe blokują wybiórczo wyzwalanie pęcherzyków Ach z zakończeń nerwowych [272,273]. Te wytwarzane przez *Clostridium* toksyny, trawią wybiórczo jedno lub wszystkie białka SNARE, synaptobrewiny. Białko związane z synaptosomem, Mr 25,000 (SNAP-25) i syntaksyna, blokują egzocytotę pęcherzyków [274].

Nieprawidłowa ekspresja izoform lamininy wywołuje ciężkie dystrofie mięśniowe i wrodzone miopatie.

6.1. *Myasthenia gravis*

Myasthenia gravis jest chorobą spowodowaną przez przeciwciała nakierowane na receptory n-AchR. Przeciwciała te wiążą się z zewnątrzkomórkowymi fragmentami n-AchR i powodują utratę funkcji receptora, poprzez zachodzący z udziałem dopełniacza proces lityczny i nasilenie internalizacji. U niewielu

gative *myasthenia gravis* patients have antibodies to MuSK. The endplate does appear to respond to the loss of n-AchRs. Choline acetyl-transferase activity and Ach release are increased at the myasthenic endplate, also transcription of n-AchR subunit genes is increased. The increased synthesis does not appear to lead to sufficient synthesis of n-AchR to balance the loss produced by the disease.

6.2. Congenital myasthenic syndromes

The congenital myasthenic syndromes can be classified according to their target as presynaptic, synaptic basal lamina-associated or postsynaptic. Congenital myasthenia is caused by genetic defects of the presynaptic or postsynaptic apparatus. They are a heterogeneous group of inherited disorders characterized by defective transmission of neuromuscular excitation resulting in muscle fatigue. More than 60 different mutations of AchRs have been identified as causative for congenital myasthenic syndromes. Presynaptic defects reduce Ach release and resynthesis due to mutations in the choline acetyltransferase. Synaptic syndromes are caused by acetylcholinesterase (AChE) deficiency due to mutations in the collagenic tail subunit (ColQ) that mediates AChE insertion into the synaptic basal lamina. The postsynaptic forms of congenital myasthenic syndromes constitute the largest group, and they are mainly due to dominant or recessive mutations in the genes that encode for the muscular n-AchR subunits, or in proteins anchoring AchRs into the membrane, such as the rapsyn mutations. The ϵ -subunit, which is expressed in the adult form of the neuromuscular junction n-AchR exhibits the highest frequency of alteration. Loss of function mutations of AchR-subunits lead to compensatory expression of fetal δ -subunits, yielding AchR-complexes that differ functionally from the adult type. Mutations in the γ -subunit of the muscular n-AchR reduce fetal movement and cause severe arthrogryposis (Escobar syndrome). Patients with Escobar syndrome often survive because the ϵ -subunit is switched on around birth, restoring receptor function.

6.3. Lambert-Eaton Myasthenic syndrome

The Lambert-Eaton myasthenic syndrome (LEMS) also presents with muscular weakness, however, this disorder is characterised by proximal limb weakness and dysfunction of the autonomic nervous system, for example dry mouth, constipation and, in

chorych, u których nużliwość mięśni występuje od urodzenia, wykryto zaburzenia genetyczne, polegające na mutacjach n-AchR lub innych białek, uczestniczących w neuroprzekaznictwie. U około 70% sero-ujemnych chorych z *myasthenia gravis* występują przeciwciała swoiste dla MuSK. Wydaje się, że płytka końcowa reaguje na utratę receptorów n-Ach. Aktywność acetylo-transferazy cholin i uwalnianie Ach na płytce miastenicznej zwiększają się i zwiększa się także ekspresja genów, odpowiedzialnych za transkrypcję receptorów nikotynowych Ach. Zwiększona synteza nie wydaje się wytwarzać n-AchR w takiej ilości, by skompensować straty spowodowane przez chorobę.

6.2. Wrodzone zespoły miasteniczne

Wrodzone zespoły miasteniczne mogą zostać sklasyfikowane w zależności od tego, na co nakierowane są przeciwciała, a więc presynaptyczne, skojarzone z synaptyczną błoną podstawową albo postsynaptyczne. Miastenia wrodzona jest spowodowana wrodzonym defektem genetycznym mechanizmu przed lub postsynaptycznego. Stanowi niejednorodną grupę wrodzonych zaburzeń, charakteryzujących się upośledzonym przewodzeniem nerwowo-mięśniowym bodźca, co powoduje nużliwość mięśni. Znalaziono ponad 60 różnych mutacji genetycznych receptorów nikotynowych Ach, odpowiedzialnych za wrodzone zespoły miasteniczne. Defekty presynaptyczne zmniejszają uwalnianie Ach i jej resyntezę,

Wskutek mutacji acetylotransferazy cholin. Zespoły synaptyczne są wywołane niedoborem acetylocholinotransferazy (AChE), spowodowanym mutacjami podjednostki pęczka kolagenu (ColQ), pośredniczącego w osadzeniu AChE w synaptycznej blaszce podstawowej. Postaci postsynaptyczne wrodzonych zespołów miastenicznych stanowią największą grupę. Są one na ogół wywołane dominującymi lub recesywnymi zmianami genów, kodujących podjednostki mięśniowych receptorów n-Ach albo białek mocujących Ach w błonie. Przykładem są mutacje rapsyny. Największą częstotliwość zmian wykazuje podjednostka ϵ , wytwarzana w dojrzałej postaci receptora n-Ach. Zanik lub zmiany czynnościowe podjednostek receptorów AchR prowadzą do wyrównawczej ekspresji płodowych podjednostek δ , w następstwie czego powstają kompleksy receptorów Ach o innej funkcji, niż receptory typu dorosłych. Mutacje w obrębie podjednostki γ receptora nikotynowego Ach zmniejszają ruchliwość płodu i powodują ciężką arthrogrypozę (zespół Escobara). Chorzy z zespo-

men, sexual impotence [275]. The muscle strength, which is initially low, often increases markedly following a period of maximal voluntary activation. With rapid repetitive stimulation, the calcium influx is enhanced and calcium concentration in the nerve terminal can rise high enough to stimulate synaptic vesicle fusion. Approximately 50% of LEMS patients have an underlying small cell lung carcinoma. But, also with other cancers can LEMS occur. The disease is caused by production of antibodies to P/Q-type voltage-gated Ca^{2+} -channels and thus the number of Ach quanta released per nerve impulse is reduced and in morphology there is a reduction in the density and distribution of the active zone particles representing the Ca^{2+} -channels.

6.4. Myotonia

Myotonic dystrophy type 1 (DM1) is caused by an expansion of a CTG repeat in the 3' untranslated region of the myotonin-protein kinase (DMPK) gene on chromosome 19, and myotonic dystrophy type 2 (DM2) is caused by an expansion of a CCTG repeat in intron 1 of the cellular nucleic acid-binding protein (CNBP) gene on chromosome 3.

Myotonia is a plasmalemmal hyper-excitability due to mutant Na^{+} - or Cl^{-} - channels. There is uncontrolled repetitive action potentials of the sarcolemma following an initial voluntary activation. The involuntary electrical activity prevents the muscle from immediate relaxation after contraction, and the patients subsequently experience this as muscle stiffness. Dominant Thomsen myotonia and recessive Becker myotonia are caused by mutations in the Cl^{-} -channel.

In Na^{+} channel myotonia and paramyotonia, there is a gating defect of the Na^{+} channels. This results in an increased tendency of the muscle fibres to depolarize, which generates repetitive action potentials.

Periodic paralysis is characterized by plasmalemmal hypo-excitability due to mutant Na^{+} - or Ca^{2+} -channels. There is two types: hyperkalemic and hypokalemic paralysis. Intake of K^{+} and intake of glucose have opposite effects in these 2 disorders: K^{+} triggers a hyperkalemic attack and glucose is a remedy, glucose provokes hypokalemic attacks, which are ameliorated by K^{+} intake.

6.5. Acquired neuromyotonia

Acquired neuromyotonia, also called Isaac's disease, is a disorder of peripheral nerve hyperac-

tion. Escobara często przeżywają, ponieważ podjednostka e jest w okresie okołoporodowym wyłączana, co pozwala na powrót prawidłowej czynności receptora.

6.3. Zespół Lambert-Eatona

Zespół miasteniczny Lambert-Eatona (LEMS) też objawia się nużliwością mięśni, ale do charakterystycznych dla tego schorzenia cech należą również osłabienie bliższych części kończyn i zaburzenia czynności autonomicznego układu nerwowego, jak na przykład suchość ust, zaparcia, oraz impotencja seksualna u mężczyzn [275]. Początkowo niska siła mięśniowa, często wzrasta znacząco podczas maksymalnej aktywności dowolnej. W czasie szybko powtarzających się pobudzeń zwiększa się napływ wapnia i jego stężenie w zakończeniu nerwowym, co może osiągać poziom wystarczający do wzbudzenia fuzji pęcherzyków synaptycznych. U blisko 50% chorych z LEMS występuje drobnokomórkowy rak płuc. Jednakże LEMS może także występować w przebiegu innych nowotworów. Choroba jest spowodowana wytwarzaniem przeciwciał przeciwko bramkowanym napięciem kanałom Ca^{2+} typu P/Q, w wyniku czego mniejsze są porcje Ach uwalniane przy każdym impulsie nerwowym, a pod względem budowy następuje zmniejszenie gęstości i rozprzestrzenienia cząstek strefy aktywnej, odpowiadającej kanałom Ca^{2+} .

6.4. Miotonia

Dystrofia miotoniczna typu 1 (DM1) jest spowodowana nasileniem się powtórzeń w nie uległym translacji regionie 3' genu kinazy białka miotoniny w chromosomie 19, a dystrofia miotoniczna typu 2 (DM2) jest spowodowana ekspansją powtórzeń CCTG w intronie 1 genu kwaśnego białka, wiążącego komórkowy kwas nukleinowy (CNBP) w chromosomie 3.

Miotonia stanowi nadpobudliwość plazmalemmy wskutek mutacji kanałów Na^{+} lub Cl^{-} . Po wstępnym, dowolnym pobudzeniu, następują niekontrolowane, wtórne potencjały czynnościowe na sarkolemie. Bezwiedna aktywność elektryczna uniemożliwia rozkurcz mięśni bezpośrednio po skurczu, wskutek czego chorzy odczuwają sztywność mięśniową. Dominująca miotonia Thomsena i recesywna miotonia Beckera stanowią następstwo mutacji kanału Cl^{-} .

W miotomii kanału Na^{+} i paramiotonii, ma miejsce defekt bramkowania kanałów Na^{+} . To powoduje zwiększoną skłonność włókien mięśniowych do depolaryzacji, generujących powtarzające się potencjały czynnościowe.

tivity that results in muscle twitching (myokymia) and cramps, increased sweating and other autonomic problems [276]. 20% of the patients have an associated thymoma. This peripheral nerve over-activity is associated with antibodies binding to presynaptic voltage-gated K^+ -channels [277].

6.6. Snake toxins

Snake venoms are a cocktail of toxins and enzymes that result in peripheral neurotoxicity, coagulative disorders, myotoxicity, renal failure as well as severe necrosis at the site of the bite. Often, a combination of many types of neurotoxins may be present together in the venom of one species. The skeletal muscle NMJ is susceptible to neurotoxin action at presynaptic sites. Presynaptic neurotoxins contain phospholipase A2 enzymes which inhibit the release of Ach, but also fasciculins which inhibit the activity of AchE present at the NMJ as well as at central synapses, and κ -neurotoxins which bind to neuronal n-AchRs. The postsynaptic neurotoxins (α -neurotoxins) bind with high affinity and selectivity to postsynaptic n-AchRs to produce blockade of NMT. The venoms of marine cone snails also represent active peptides called conotoxins that target a wide variety of receptors and ion-channels.

The α -neurotoxins (α -bungarotoxin is the most potent example) in the venoms of elapid and hydrophid snakes are high-affinity competitive inhibitors of Ach binding to nicotinic Ach receptors in striated muscle.

Waglerinins have high affinity for the α binding site of the AchR, α -conotoxins inhibit muscle-type AchRs competitively while Ψ -conotoxins are non-competitive blockers.

6.7. Botulinum toxin and Tetanus toxin [278]

Clostridium botulinum neurotoxins, serotypes A-G, and *Clostridium tetani* neurotoxin have a dichain protein structure, comprising a light chain (LC, 50 kDa) and a heavy chain (HC, 100 kDa) linked by a disulfide bond. The light chains are zinc-endopeptidases specific for the core components of the neurotransmitter release apparatus [279]. They inhibit synaptic vesicle fusion with the plasma membrane through the cleavage of soluble N-ethylmaleimidesensitive factor attachment protein receptor (SNARE) proteins i.e. syntaxin 1A, SNAP-25, and VAMP-2.

After entering the general circulation, clostridial neurotoxins bind very specifically to the presynaptic

Okresowe porażenia charakteryzują się zmniejszoną pobudliwością plazmalemy wskutek zmian kanałów Na^+ lub Ca^{2+} . Istnieją dwie postaci porażenia: hiperkalemiczna i hipokalemiczna. Przyjęcie K^+ i przyjęcie glukozy mają skutek przeciwny w obu typach zaburzeń: K^+ wywołuje napady hiperkalemiczne a środkiem przeciwdziałającym jest glukoza, z kolei glukoza wywołuje napady hipokalemiczne, w których przyjęcie K^+ łagodzi atak.

6.5. Neuromiotonia nabyta

Neuromiotonia nabyta, nazywana także chorobą Izaaka, stanowi zespół zaburzeń, polegających na nadaktywności nerwów obwodowych, wywołującej drżenia (miokimie) i prężenia, zwiększoną potliwość i inne zaburzenia czynności wegetatywnych [276]. U 20% chorych występuje grasiczak. Ta obwodowa nadaktywność nerwowa jest spowodowana wiązaniem się przeciwciał z presynaptycznymi kanałami K^+ regulowanymi napięciem [277].

6.6. Jady żmij

Jady żmij stanowią mieszaną toksyn, enzymów, wywołujących zatrucie nerwów obwodowych, zaburzenia krzepnięcia, zatrucie mięśni, niewydolność nerek oraz głęboką martwicę w miejscu ukąszenia. Często w jady jednego gatunku żmiji występuje połączenie neurotoksyn różnego typu. Złącza nerwowo-mięśniowe mięśni szkieletowych są wrażliwe na działanie neurotoksyn w miejscach presynaptycznych. Neurotoksyny presynaptyczne zawierają enzym fosfolipazę A2, która hamuje uwalnianie Ach, oraz fascikuliny, które hamują aktywność AchE obecnej w złączach NM i w synapsach ośrodkowych. Neurotoksyny κ wiążą się z neuronalnymi receptorami n-Ach. Neurotoksyny postsynaptyczne (neurotoksyny α) wiążą się bardzo swoiście wybiórczo z postsynaptycznymi receptorami n-Ach, powodując blok przewodnictwa nerwowo-mięśniowego. Jady stożkowatego ślimaka morskiego są czynnymi peptydami, określanymi jako konotoksyny, które działają na szerokie spektrum receptorów i kanałów jonowych.

Neurotoksyny α (α -bungarotoksyna jest najmocniejszym przedstawicielem) jadu zdradnicowatych (*elapidae*) i węży morskich (*hydrophidae*) stanowią wysoce kompetetywne inhibitory wiązania Ach do receptorów nikotynowych Ach w mięśniach poprzecznie prążkowanych.

Wagleryny mają wysokie powinowactwo do miejsc wiązania α na receptorach AchR, konotoksyny

membrane of motoneuron nerve endings (Figure 24). Intoxication then proceeds via a four-step mechanism, consisting of: (1) binding, (2) internalization, (3) membrane translocation, and (4) enzymatic target modification [280]. The internalization of the toxins is by endocytosis. Low pH of the endocytic vesicles (necessary for filling of the vesicles see section 4.1.5.2.), which also mediate toxin endocytosis, induces a conformational change of TeNT and BoNT, converting the toxins from a water-soluble “neutral” form to an “acid” form with surface-exposed hydrophobic segments.

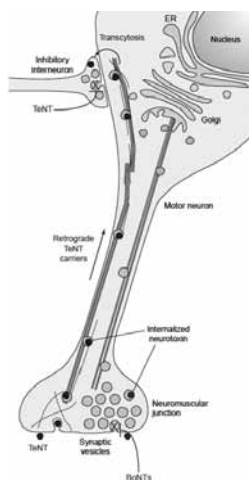


Figure 24. Place of action of tetanus (TeNT) and botulinum (BoNT) toxins
Rycina 24. Miejsce działania toksyny tężcovej (TeNT) i botuliny (BoNT)

6.7.1. Botulinum toxin

The first well-documented cases of botulinum intoxication occurred in Württemberg during the Napoleonic wars between 1795 and 1813 [281]. Botulinum toxin, causing botulism food poisoning was first identified in 1897 as the product of the anaerobic bacterium *Clostridium botulinum*, *C. butyricum*, and *C. barati* and are regarded as the most hazardous natural substance known. They disrupt neurotransmitter (Ach) release at the neuromuscular junction for 4–6 months in humans. The lethal effects of clostridial neurotoxins thus arise from a blockade of Ach release at the NMJ. The toxin has also been shown to block acetylcholine release in post-ganglionic fibres of the parasympathetic division of the autonomic nervous system. The in vivo cholinergic specificity of the

α blokują kompetytywne typ mięśniowy receptorów Ach, podczas gdy konotoksyny Ψ stanowią blokery niekompetytywne.

6.7. Botulina i toksyna tężcowa [278]

Neurotoksyny *Clostridium botulinum*, serotypy A-G, i neurotoksyny *Clostridium tetani* zbudowane są z dwu łańcuchów białkowych, lekkiego łańcucha (light chain LC, 50 kDa) i łańcucha ciężkiego (heavy chain HC, 100 kDa) połączonych mostkami siarkowymi. Łańcuchy lekkie są endopeptydazami cynkowymi, swoistymi dla rdzeniowej części układu uwalniania neuroprzekaźnika [279]. Hamują one zlewianie się pęcherzyków synaptycznych z błoną plazmatyczną poprzez przecinanie rozpuszczalnego, wrażliwego na N-ethylmaleimid czynnika białkowego, odpowiedzialnego za wiązanie z receptorem (SNARE), jak np. syntaksyna 1A, SNAP-25 i VAMP-2.

Po wejściu do dużego krwioobiegu neurotoksyny tężcowe wiążą się bardzo swoicie z błoną presynaptyczną zakończeń nerwów ruchowych (patrz rycina 24). Zatrucie postępuje w czterech etapach: (1) wiązania, (2) internalizacji, (3) translokacji błony, (4) enzymatycznej modyfikacji struktury docelowej [280]. Internalizacja toksyn zachodzi na drodze endocytozy. Niskie pH pęcherzyków endotoksycznych (warunki wypełniania pęcherzyków przedstawiono w rozdziale 4.1.5.2.), które ma udział także we wprowadzaniu do komórki toksyn, rozpoczyna zmiany konfiguracji TeNT i BoNT, przekształcając toksyny z rozpuszczalnej w wodzie postaci “neutralnej” w postać “kwaśną” z odsłoniętymi na powierzchni segmentami hydrofobowymi.

6.7.1. Toksyna botulinowa

Pierwsze, dokładnie opisane zatrucie botulią, miało miejsce w Württembergu podczas wojen napoleońskich w latach 1795 i 1813 [281]. Toksyna botulinowa, botulina, powodująca botulinowe zatrucie pokarmowe, została po raz pierwszy rozpoznana w roku 1897, jako substancja wytwarzana przez bakterie beztlenowe *Clostridium botulinum*, *C. butyricum* i *C. barati*, uznana została za najbardziej niebezpieczną substancję naturalną, spośród wszystkich znanych. Toksyny przerywają uwalnianie neuroprzekaźnika (Ach) w złączach nerwowo-mięśniowych na okres 4–6 miesięcy u ludzi. Śmiertelny skutek neurotoksyny tężcowej wynika z blokady w uwalnianiu Ach w złączy NM. Stwierdzono także, że toksyny blokują uwalnianie acetylcholiny z włókien pozazwojowych części przywspółczulnej

toxin was solely mediated by the presence of suitable ecto-acceptors at the motor nerve ending that mediate toxin binding [282]. Introduction of the toxin directly into any nerve cell blocks the release of any neurotransmitter [283]. Seven immunologically distinct forms of botulinum neurotoxin exist, designated as serotypes A, B, C1, D, E, F and G. The botulinum toxins act to disable the SNARE complex by selectively cleaving the different SNARE components (synaptobrevin, SNAP-25 and syntaxin). Type A cleaves SNAP-25 by removing nine amino acids from the C-terminus, whereas type E cleaves 26 amino acids from the C-terminus of SNAP-25. The light chains of the other serotypes cleave syntaxin (type C1) and synaptobrevin (types B, D, F and G) at various locations [284]. The type A toxin complex is used in the treatment of muscle disorders, such as strabismus, blepharospasm and hemi-facial spasm. Furthermore it is used for a wide range of conditions characterized by involuntary muscle contraction, and in the treatment of conditions such as achalasia, hyper-hydrosols and hyper-salivation. Its ability to block the responses of autonomic and sensory nerves has led to further indications. Type A causes extensive nerve sprouting and end-plate remodelling with formation of functional extra-junctional synapses [285].

After binding, botulinum toxin is taken up into the motor neurone, via the acceptor-mediated endocytosis [286]. Following internalization, the light chain is trans-located into the cytoplasm of the motor neuron.

All forms of botulism produce similar effects, and should always be considered in afebrile and alert patients presenting with a descending flaccid paralysis with intact sensation. The incubation period and time to onset of symptoms is determined by the amount of toxin absorbed. In food borne botulism the time to onset of neurological symptoms varies from 2–36 hours, but can be up to eight days. Treatment is mainly supportive.

6.7.2. Tetanus toxin

Tetanus neurotoxin is synthesized by *Clostridium tetani*. Tetanus toxin causes the opposite symptoms from botulinum toxin, because of its intraaxonal ascent from motoneurons into the spinal cord and action in inhibitory interneurons [287]. Tetanus toxin initially binds to peripheral neurons and retrograde traffics to the central nervous system where glycine (inhibitory

autonomicznego układu nerwowego. Cholinergiczna swoistość toksyny *in vivo* była wyłącznie związana z obecnością zewnętrznych chwytników, uczestniczących w wiązaniu toksyny [282]. Bezpośrednie wprowadzenie toksyny do wnętrza komórki blokuje uwalnianie jakiegokolwiek substancji przekąźnikowej [283]. Istnieje siedem immunologicznie zróżnicowanych postaci, określanych jako serotypy A, B, C1, D, E, F i G. Toksyny botulinowe upośledzają funkcję kompleksu SNARE poprzez wybiórcze odcinanie różnych składowych SNARE (synaptobrewina, SNAP-25 i syntaksyna). Typ A rozkłada SNAP-25 usuwając dziewięć aminokwasów od końca C, podczas gdy typ E usuwa 26 aminokwasów z końca węglowego SNAP-25. Lekkie łańcuchy innych typów serologicznych przecinają syntaksynę (typ C1) i synaptobrewinę (typy B, D, F i G) w różnych miejscach [284]. Kompleks toksyny typu A jest stosowany w leczeniu zaburzeń czynności mięśniowych, jak zez, kurcz powiek lub porażenie nerwu twarowego. Ponadto stosowany jest w szeregu sytuacji, w których występują nie kontrolowane kurcze mięśni a także w leczeniu takich zaburzeń, jak rozstrzeń przełyku, nadmierna potliwość i ślinotok. Zdolność toksyn blokowania odpowiedzi nerwów autonomicznych i czuciowych rozszerza zakres ich stosowania. Typ A powoduje rozległe ączkowanie nerwów I przebudowę płytki końcowej z wytwarzaniem czynnych synaps poza złączeniem [285].

Po związaniu botulina trafia do neuronu motorycznego na drodze zależnej od receptorów endocytozy [286]. Po internalizacji łańcuch lekki jest przemieszczany do cytoplazmy neuronu ruchowego.

Wszystkie postaci botulizmu wywołują podobne objawy i powinny zawsze być brane pod uwagę u chorych bez gorączki, przytomnych, u których rozwija się zstępujący niedowład wiotki bez zaburzeń czuciowych. Czas inkubacji i pojawienia się pierwszych objawów zależy od ilości wchłoniętej trucizny. W botulizmie pokarmowym objawy neurologiczne pojawiają się w czasie 2-36 godzin ale mogą też wystąpić po ośmiu dniach. Stosuje się na ogół leczenie podtrzymujące.

6.7.2. Toksyna tężcowa

Neurotoksynę tężcową syntetyzuje *Clostridium tetani*. Toksyna tężcowa wywołuje objawy przeciwstawne do tych, które wywołują toksyny botulinowe, ponieważ wstępuje przez neurony ruchowe do rdzenia kręgowego i działa na interneurony hamujące [287]. Toksyna tężcowa wiąże się z częściami obwodowymi nerwów, a następnie na drodze transportu wstecznego

transmitter) release is blocked in inhibitory interneurons and down-regulates motor neuron activity, resulting in spastic paralysis. It cleaves vesicle-associated membrane protein-2 (VAMP-2). The resultant inhibition of inhibitory transmission by the tetanus toxin results in the dominant clinical features of hyperexcitability combined with clinical weakness between spasms and the paralysis of cranial nerves. Generalised tetanus is the most common presentation in which muscles throughout the body are affected, with the head and neck being usually affected first followed by a caudal spread of spasms. Excessive bronchial secretions and hypersalivation resulting from autonomic overactivity, in conjunction with laryngeal spasms and dysphagia, make asphyxiation a particular complication that needs to be guarded against in tetanus. External stimuli provoke muscle spasms and may worsen the autonomic disturbances in tetanus. If muscle spasms persist despite adequate sedation, muscle relaxants may be required.

6.8. Malignant hyperthermia [288]

Susceptibility to malignant hyperthermia is an autosomal dominant predisposition to respond abnormally when exposed to volatile anaesthetics, depolarizing muscle relaxants. Malignant hyperthermia is a hyper-metabolic state that may be triggered in susceptible individuals by commonly used halogenated anaesthetics. The symptoms (hypoxia, acidosis, spasm, hyperthermia, etc.) result from release of Ca^{2+} from the sarcoplasmic reticulum in skeletal muscle. There exists dysfunctional Ca^{2+} release control. The released Ca^{2+} induces contraction, up-regulates a number of metabolic reactions and stimulates ATP consumption. The overall higher metabolic activity causes increased CO_2 , lactic acid and heat production as well as increased O_2 consumption, leading to the symptoms of hypercapnia, acidosis, hyperthermia, hypoxia and tachycardia. Membrane damage leads to rhabdomyolysis causing increased plasma levels of potassium, creatine-kinase and myoglobin. These events may finally cause death because of cardiac arrhythmia or cardiac arrest, cerebral hypoxic damage, renal failure (myoglobinuria). Without immediate treatment, up to 70% of the patients die. Early administration of dantrolene, an inhibitor of Ca^{2+} release from the sarcoplasmic reticulum, has successfully aborted numerous fulminant crises and has reduced the mortality rate to less than 10%.

dotycząca do ośrodkowego układu nerwowego, gdzie blokuje w interneuronach uwalnianie glicyny (neuroprzekaznik hamujący) i zwiększa aktywność neuronów motorycznych, powodując porażenie spastyczne. Niszczy białko błonowe 2 występujące w pęcherzyku (VAMP-2). Blokowanie przewodzenia hamującego, do jakiego dochodzi pod wpływem toksyny tężcowej, wywołuje jako objaw klinicznie wiodący, nadpobudliwość, połączoną z okresami osłabienia między napadami spastycznymi oraz porażenie nerwów czaszkowych. Najczęstszą postacią jest tężec uogólniony, w której zajęte są wszystkie grupy mięśniowe. Najwcześniej zajęte są mięśnie głowy i szyi, a następnie spazm obejmuje kolejne grupy mięśni w kierunku doogonowym. Nadmierne wydzielanie oskrzeli i ślinotok stanowią wyraz nadmiernego pobudzenia układu autonomicznego, które w połączeniu z kurczem krtani i zaburzeniami połknięcia sprawiają, że szczególnym powikłaniem jest zachłyśnięcie się, któremu należy zapobiegać w przebiegu tężca. Pobudzenia zewnętrzne wywołują spazm mięśni u chorych na tężec i mogą pogarszać objawy wegetatywne. Jeśli napięcie tężcowe utrzymuje się pomimo dostatecznej sedacji, koniecznym może być zastosowanie środków zwiotczających mięśnie.

6.8. Gorączka złośliwa [288]

Podatność na gorączkę złośliwą jest skłonnością dziedziczną w sposób autosomalnie dominujący, z nieprawidłową odpowiedzią na anestetyki wziewne i depolaryzujące środki zwiotczające mięśnie. Gorączka złośliwa jest stanem hipermetabolizmu, który może być wyzwolony u osób wrażliwych przez powszechnie stosowane anestetyki halogenowe. Objawy (hipoksja, kwasica, spazm, hyperthermia, etc.) stanowią następstwo wypływu Ca^{2+} z retikulum sarkoplazmatycznego komórek mięśni szkieletowych. Zaburzona jest regulacja uwalniania Ca^{2+} . Uwolnienie Ca^{2+} rozpoczyna skurcz, zwiększa metabolizm i powoduje wzmożone zużycie ATP. Nasiloną aktywność metaboliczną powoduje zwiększone wytwarzanie CO_2 , kwasu mlekowego i ciepła, jednocześnie zwiększa się zużycie tlenu, wiodące do hiperkapni, kwasicy, hipertermii, hipoksji i tachykardii. Uszkodzenie błony prowadzi do rozpadu mięśni poprzecznie prążkowanych, powodującego zwiększenie stężenia w osoczu potasu, kinazy kreatyninowej i mioglobiny. Te wydarzenia mogą ostatecznie doprowadzić do śmierci wskutek niemierności serca, nagłego przerwania krążenia krwi, hipoksyjnego uszkodzenia mózgu czy niewy-

Almost 30 mutations causing the susceptibility to malignant hyperthermia have been reported to date. Most of the detected amino acid exchanges are clustered in two broad regions of the human ryanodine receptor. Some of these mutations also cause central core disease.

To determine the susceptibility to malignant hyperthermia, standardized test protocols have been devised using contracture force of biopsied muscle fibre bundles in response to halothane and caffeine.

Central core disease is the only neuromuscular disorder that predetermines susceptibility for malignant hyperthermia. It is a congenital myopathy clinically characterized by muscle hypotrophy and weakness and a floppy-infant syndrome, often alongside other skeletal abnormalities such as hip displacement and scoliosis.

7. Pharmacological interference with neuromuscular transmission

Theoretically there are several possibilities to interfere with muscle contraction. These theoretical pathways are the ways for the future development of new relaxants.

1. First it is possible to interfere with the generation and conduction of stimuli in the motor nerve. The local anaesthetic-like agents act in this way. For systemic application of this possibility, large doses of local anaesthetic-like drugs are required. They however will, besides central nervous system effects, also decrease the stimulus production and propagation in the myocardium. This would, for the application as a blocker of neuromuscular transmission, require the development of a drug selective for the inhibition of motor nerve conductivity. This is at the moment not possible. Some natural toxins act by blockade of motor nerve conductivity i.e. tetrodotoxin from the puffer fish and some other animals, and saxitoxin from Alaskan butterclam and some algae [289]. The tetrodotoxin mechanism of action is irreversible block of sodium channels. The saxitoxin have an effect on potassium and calcium channels. They are not suitable for clinical use because their effect is in most cases irreversible. However derivatives may possibly appear to be useful.

2. Second, one can interfere with the synthesis, mobilization, and release of acetylcholine in the motor nerve terminal. Interference with the synthe-

se of norepinephrine (mioglobulinuria). Jeśli nie jest podjęte natychmiastowe leczenie, umiera do 70% chorych. Wczesne podawanie dantrolenu, blokera uwalniania Ca^{2+} z siateczki sarkoplazmatycznej, skutecznie zmniejszyło liczne, piorunujące przełomy i doprowadziło do zmniejszenia śmiertelności do poniżej 10%.

Dotychczas zgłoszono prawie 30 mutacji odpowiedzialnych za zwiększenie podatności na gorączkę złośliwą. Większość wykrytych substytucji aminokwasów skupia się w dwu rozległych obszarach ludzkiego receptora ryanodyny. Niektóre z mutacji powodują także choroby ośrodkowo-rdzeniowe.

Do oceny podatności na gorączkę złośliwą, zaleca się standardową procedurę testu, w którym mierzy się siłę skurczu włókien mięśniowych, pobranych biopsyjnie, w odpowiedzi na zastosowanie halotanu i kofeiny.

Choroba ośrodkowo rdzeniowa jest jedynym zaburzeniem mięśniowym, które określa podatność na gorączkę złośliwą. Jest to wrodzona miopatia o klinicznym obrazie niedorozwoju mięśni oraz ich nużliwości oraz zespołu „lejącego się” chorego, współwystępująca często z innymi zaburzeniami ze strony układu kostnego, jak dysplazje stawów biodrowych lub skolioza.

7. Zaburzenia przewodnictwa nerwowo-mięśniowego spowodowane przez środki farmakologiczne

Teoretycznie istnieje szereg możliwości zakłócania skurczu mięśnia. Te teoretyczne możliwości stanowią drogi rozwoju nowych środków zwiotczających w przyszłości.

1. Pierwsza możliwość polega na zakłócaniu wyzwalania i przewodzenia bodźców w nerwie ruchowym. W ten sposób działają środki podobne do anestetyków o miejscowym działaniu. Aby wykorzystać ten mechanizm w sposób uogólniony, należałoby zastosować duże ilości środków podobnych do anestetyków o lokalnym działaniu. Mogłyby one jednakże, poza działaniem na ośrodkowy układ nerwowy, zmniejszyć także wytwarzanie i rozchodzenie się fali pobudzenia w mięśniu sercowym. Wymagałoby to, w celu stosowania jako blokera przewodzenia nerwowo-mięśniowego, poszukiwania leku o wybiórczym działaniu hamującym przewodzenie w nerwach ruchowych. Nie jest to możliwe w chwili obecnej. Niektóre naturalne toksyny blokują przewodnictwo nerwowo-mięśniowe, jak np. tetrodotoksyna, występująca u ryby kulistej i niektórych innych zwierząt oraz saksytoksyna, występująca u alaskańskiej małży

sis (with for example hemicholine) and mobilization of acetylcholine will likely also interfere with other than neuromuscular cholinergic transmission i.e. will result for example in autonomic misbalance and central nervous system effects. Vesamicol (AH5183) inhibits the uptake of acetylcholine in the vesicles and thereby causes a slow developing neuromuscular blockade; it also inhibits the release of non-vesicular acetylcholine. The effect is reversed by 4-aminopyridine, which increases the open time of K^+ -channels. A similar effect is reached by quinacrine and tetraphenylboron. However they affect also other than neuromuscular cholinergic transmission. It is well known that some of the non-depolarising relaxants do block pre-synaptic acetylcholine receptors and thus inhibit acetylcholine release [290,291]. Blockade of such receptors is likely to be involved in the fade in response to train of four and tetanic stimulation when non-depolarising relaxants are administered. The amount of fade produced by different non-depolarising drugs varies, and so presumably does the effect on the nerve terminal [292]. Further development of this concept of selective inhibition of acetylcholine release at the motor nerve terminal may be a feasible new pathway. β -Bungarotoxin is a toxin that selectively blocks pre-synaptic acetylcholine release in an irreversible manner, and thus is not useful clinically. Acetylcholine release requires the activity of many presynaptic peptides for loading, docking and fusion of the pre-synaptic peptides. These peptides are involved in the release of all neurotransmitter; however their amino-acid sequence seems to differ from system to system. If such specificity exists for muscles then it might be possible to block Ach release solely in the muscles, and possibly even only for particular muscles. A number of snake and bacterial toxins act in this way selectively for neuro-muscular transmission (i.e. tetanus and botulinum toxins). Quite some research has to be done before this pathway becomes feasible.

3. Third, it is possible to block the postsynaptic acetylcholine receptor, thus preventing its occupation by acetylcholine. α -Bungarotoxin causes selective, but irreversible block of the postsynaptic receptors. The currently used depolarising and non-depolarising relaxants block the postsynaptic receptors in a reversible way. Further development of this group of drugs is possible; however this will require new molecular structures. The discovery that various subtypes of muscarinic and nicotinic acetylcholine receptors do

maślanej i u niektórych alg [289]. Mechanizm działania tetrodotoksyny polega na nieodwracalnym blokowaniu kanałów sodowych. Saksytoksyna wpływa na czynność kanałów potasowych i wapniowych. Nie są one przydatne do klinicznego stosowania, ponieważ efekt ich działania jest przeważnie nieodwracalny. Jednakże może okazać się, że ich pochodne okażą się przydatne.

2. Po drugie, można zakłócać syntezę, uruchamianie i uwalnianie acetylocholino z zakończeń nerwów ruchowych. Zaburzenie syntezy (np. za pomocą chemicholino) i mobilizacji acetylocholino może zakłócać także inne przewodnictwo cholinergiczne, niż nerwowo-mięśniowe, a tym samym prowadzić do zniesienia równowagi autonomicznej i upośledzenia czynności ośrodkowego układu nerwowego. Vesamicol (AH5183) hamuje zwrotne wchłanianie acetylocholino w pęcherzykach i tym samym powoduje wolno postępującą blokadę nerwowo-mięśniową; hamuje także uwalnianie acetylocholino pozapęcherzykowej. Działanie odwraca 4-aminopirydyna, która wydłuża czas otwarcia kanałów K^+ . Podobny skutek wywołują quinakryna i tetrafenylboran. Środki te wpływają jednak także na przewodnictwo cholinergiczne pozamięśniowe. Wiadomo, że niektóre ze środków niedepolaryzujących blokują presynaptyczne receptory acetylocholino i tym samym hamują uwalnianie acetylocholino [290,291]. Blokowanie tych receptorów jest prawdopodobnie odpowiedzialne za zjawisko wygaszania w odpowiedzi na ciąg czterech bodźców i stymulację tężcową po zastosowaniu niektórych środków zwiotczających niedepolaryzujących. Wielkość wygaszania powodowana różnymi środkami niedepolaryzującymi nie jest jednakowa i nierówny jest prawdopodobnie wpływ na zakończenia nerwowe [292]. Dalsze rozwijanie teorii wybiórczego hamowania uwalniania acetylocholino z zakończeń nerwów ruchowych może stanowić nową drogę poszukiwań. Beta-bungarotoksyna jest trucizną wybiórczo blokującą presynaptyczne uwalnianie acetylocholino w sposób nieodwracalny, dlatego nie jest przydatna klinicznie. Uwalnianie acetylocholino wymaga uczynnienia wielu peptydów presynaptycznych, niezbędnych dla ładowania, dokowania i fuzji. Peptydy te są zaangażowane w uwalnianie neuroprzekaźnika, ale sekwencja aminokwasów w ich budowie jest zróżnicowana w każdym układzie. Jeśli istnieje taka swoistość w mięśniach, to możliwym jest blokowanie wyzwalania Ach tylko w mięśniach, a prawdopodobnie nawet w poszczególnych mięśniach. Szereg toksyn zmij

exist, and that they are unevenly distributed over the various muscles, may make selective blockade of muscles feasible. Differences in response of various muscle groups to administration of a relaxant have already been demonstrated [293-296]. It thus may be possible to develop relaxants that selectively will block the diaphragm or the hypo-pharyngeal and laryngeal muscles! Recently has it further been demonstrated that blockade of ion-channels, located near the acetylcholine receptor, does result in muscle relaxation. Channel blockade can only occur if the channel first has been opened by an agonist [297]. A wide variety of substances of different chemical structure, including most agonists themselves, can block open ion channels. The resulting degree of blockade is depending on the concentration of the substance. Channel blocking substances are steroids, barbiturates, tubocurarine, atropine, decamethonium, ethidium bromide, antibiotics, local anaesthetics, acetylcholine esterase inhibitors, and many others. The antagonists neostigmine and pyridostigmine also block neuromuscular transmission. Also these concepts still need further development.

4. The fourth and probably last possibility lays in the inhibition and/or prevention of excitation-contraction coupling in the muscle. Studies with one of the possible compounds, dantrolene, have shown, however, that there is lack of selectivity when high dosages are used in order to obtain complete paralysis.

Whether these new pathways can fulfil the requirements of an ideal relaxant needs to be proven. Besides the already described characteristics of an ideal relaxant can some new ones be formulated [298].

7.1. Interference with the postsynaptic acetylcholine receptors

Curare was studied in animals as early as 1850 by Claude Bernard. Curare was for the first time administered to a patient in conjunction to anaesthesia in 1912 by Lävén [299]. In 1939 Francis Sibson attempted to treat patients with rabies with curare, and in 1857 Lewis Albert Sayre advocated its use to relieve spasms of tetanus [300]. From the natural product used in that time many synthesised curariform drugs have been developed and are produced synthetically. The pharmacological effects of neuromuscular blocking agents are characterized by a wide inter-individual variability, both in the intensity and in the time course of action [301]. This is mainly determined by anatomi-

i bakterii działa właśnie w ten sposób, wybiórczy dla przewodnictwa nerwowo-mięśniowego (np. toksyna tężcowa i botulina). Zanim taka droga stanie się obiecująca, konieczne są jeszcze dalsze badania.

3. Po trzecie, możliwe jest blokowanie postsynaptycznych receptorów acetylocholinu, uniemożliwiające dostęp do nich acetylocholinu. Alfa-bungarotoksyna wywołuje selektywną ale nieodwracalną blokadę receptorów postsynaptycznych. Współcześnie dostępne depolaryzujące i niepolaryzujące środki zwiotczające blokują receptory postsynaptyczne w sposób odwracalny. Dalszy rozwój tej grupy leków jest możliwy, jednakże wymaga to poszukiwania cząsteczek o nowej strukturze. Odkrycie, że istnieją różne podtypy receptorów muskarynowych i nikotynowych acetylocholinu, i że są one rozmieszczone nierównomiernie w różnych grupach mięśni, czyni prawdopodobną możliwość selektywnego blokowania mięśni. Wykazano już różnice w odpowiedzi różnych grup mięśniowych na zastosowanie środków zwiotczających [293-296]. Może być zatem możliwe odkrycie środków zwiotczających, blokujących przeponę lub mięśnie gardła i krtani! Ostatnio wykazano także, że blokada kanałów jonowych, zlokalizowanych w pobliżu receptorów acetylocholinowych, powoduje zwiotczenie mięśni. Blokada kanału może nastąpić tylko wtedy, gdy kanał zostaje uprzednio otwarty przez agonistę [297]. Wiele różnorodnych substancji o odmiennej budowie chemicznej, wliczając w to większość samych agonistów, może blokować otwarte kanały jonowe. Głębokość wywołanej blokady jest zależna od stężenia substancji. Do substancji blokujących kanały należą steroidy, barbiturany, tubokuraryna, atropina, dekametonium, bromek etidium, antybiotyki, środki znieczulenia miejscowego, inhibitory esterazy acetylocholinowej i szereg innych. Antagoniści, neostygmina i pirydostygmina, także blokują przewodnictwo nerwowo-mięśniowe. Także ta koncepcja wymaga ciągle dalszego rozwijania.

4. Czwarta i prawdopodobnie ostatnia możliwość leży w hamowaniu i/lub zapobieganiu sprzężeniu pobudzenie-skurcz w mięśniu. Badania nad jednym z potencjalnych środków tego typu, dantrolenem, wykazały jednakże, że nie jest wybiórczy, bo kiedy stosowany jest w wysokich dawkach, powodujących pełne porażenie.

Czy nowe poszukiwania będą w stanie spełnić oczekiwania, stawiane przed idealnym środkiem zwiotczającym, dopiero okaże się. Obok już opisanej charakterystyki idealnego środka zwiotczającego, mogą zostać przeformułowane na inne nowsze [298].

cal and physiological reasons, such as inter-individual variability in body size and composition, muscular maturity (age), gender, and variability in plasma cholinesterase activity. However, many other factors are also important. These factors include interaction of relaxants with concurrent medication, and with the physical status (diseases) of the patient. A variety of diseases such as hepatic and renal failure, acid-base imbalance, electrolyte shift and neuromuscular disorders, do cause pharmacodynamic or pharmacokinetic changes in the properties of the relaxant administered. We have depolarising and non-depolarising muscle relaxants available for clinical use. The mechanism of action of the depolarising relaxants results for example in myalgia, potassium release, increase in intra-ocular, intra-cranial, and intra-gastric pressure, in salivation, and in cardiovascular effects. From this group only suxamethonium, introduced in 1951 is still clinically used because of its unique rapidity of onset and short duration of action [302]. Decamethonium, first used in 1949 disappeared completely. They are agonists on the postsynaptic acetylcholine receptor. The non-depolarizers have a competitive antagonistic postsynaptic effect. Non-depolarisers either belong to the benzyloisoquinolines (tubocurarine, atracurium, cisatracurium, mivacurium) or the steroidal (pancuronium, vecuronium, rocuronium, rapacurium) derivatives. Both groups have their own general characteristics. The benzyloisoquinolines easily cause histamine release and cardiovascular effects and they are less dependent on liver and kidney function. The steroidal relaxants are mainly eliminated via liver and kidney; they cause less cardiovascular effects and are free from histamine release. Since 1942 a large number of non-depolarising neuromuscular blockers have been clinically introduced: tubocurarine, metocurine, alloferine, pancuronium, pipecuronium, vecuronium, rocuronium, rapacurium, stercuronium, chandonium, fazadinium, dioxonium, atracurium, cisatracurium, doxacurium, and mivacurium. Many of them are because of their pharmacodynamic profiles and side effects withdrawn from routine clinical use. In the western world only pancuronium, vecuronium, rocuronium, rapacurium, atracurium, cisatracurium and mivacurium are still used.

7.1. Zakłócanie czynności postsynaptycznych receptorów acetylocholiny

Działanie kurary u zwierząt badał już w 1850 roku Claude Bernard. Po raz pierwszy zastosował kurarę w połączeniu ze znieczuleniem Lävén, w roku 1912 [299]. W roku 1939 Francis Sibson próbował leczyć kurarą chorych na wścieklicznę a w 1857 Lewis Albert Sayre zalecał jej stosowanie w znoszeniu skurczów tężcowych [300]. Ze stosowanego w tamtych czasach produktu naturalnego, wytworzono i skierowano do syntetycznej produkcji wiele pochodnych. Działanie farmakologiczne blokerów nerwowo-mięśniowych charakteryzuje się dużą zmiennością osobniczą, zarówno co do siły jak i czasu ich działania [301]. Ma to na ogół swoje przyczyny anatomiczne i fizjologiczne, takie jak międzyosobnicze różnice wielkości i składu ciała, dojrzałości mięśni (wiek), płeć oraz zmienność aktywności osoczowej cholinesterazy. Istotne znaczenie mają także inne czynniki. Należą do nich interakcje środków zwiotczających z równolegle stosowanymi lekami i stan chorego. Szereg takich schorzeń, jak niewydolność wątroby lub nerek, nierównowaga elektrolitowa i zaburzenia nerwowo-mięśniowe, zmieniać może farmakokinetyczne właściwości zastosowanych środków zwiotczających. Stosujemy w praktyce klinicznej zarówno depolaryzujące jak i niedepolaryzujące środki zwiotczające. Mechanizm działania depolaryzujących środków zwiotczających może wywoływać bóle mięśniowe, wpływ potasu, wzrost ciśnienia śródgałkowego, wzrost ciśnienia wewnątrzczaszkowego, wzrost ciśnienia wewnątrzżołądkowego, ślinotok i objawy ze strony układu krążenia. Z tej grupy środków jest ciągle stosowane suksametonium, wprowadzone w 1951 roku, ze względu na swój wyjątkowo szybki początek i krótki czas działania [302]. Dekametonium, po raz pierwszy zastosowany w 1949 r., zniknął całkowicie. Są to agoniści postsynaptycznych receptorów acetylocholiny. Środki niedepolaryzujące wywierają kompetywny efekt postsynaptyczny. Niedepolaryzujące środki zwiotczające należą albo do pochodnych benzochinoliny (tubokuraryna, atrakurium, cisatracurium, miwakurium) albo pochodnych steroidowych (pankuronium, wekuronium, rocuronium, rapacurium). Obie grupy mają swoje charakterystyczne właściwości. Benzyloizochinoliny prowadzą łatwo do uwalniania histaminy i jej skutków w układzie krążenia ale są mniej zależne od wydolności wątroby i nerek. Steroidowe środki zwiotczające są eliminowane głównie przez wątrobę i nerki, wywołują mniej działań

Correspondence address:

Leo H.D.J. Booij, M.D., Ph.D., F.R.C.A.

Professor of Anaesthesiology

Department of Anaesthesiology

Radboud University

Nijmegen,

P.O. Box 9101, 6500 HB Nijmegen

The Netherlands

Phone: +31 24 354 0524

E-mail: l.booij@anes.azn.nl

References/Piśmiennictwo

at Authors/u Autorów

and/oraz: www.anestezjologiairatownictwo.pl

ubocznych ze strony układu krążenia i nie uwalniają histaminy. Od 1942 roku wprowadzono liczne środki niedepolaryzujące zwiotczające mięśnie: tubokurarynę, metokurynę, alloferynę, pankuronium, pipekuronium, wekuronium, rokuronium, rapakuronium, sterkuronium, chandonium, fazdinium, dioksonium, atrakurium, cisatrakurium, doksakurium i miwakurium. Szereg z nich wycofano z praktyki klinicznej, ze względu na ich profil farmakodynamiczny i działania uboczne. W świecie zachodnim ciągle stosuje się już tylko pankuronium, wekuronium, rokuronium, rapakuronium, atrakurium, cisatrakurium i miwakurium.