

УДК 612.014.46:615.214:547.8

И. И. Коренюк, А. Е. Кизилов, Д. Р. Хусаинов

ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ НЕЙРОНОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ МЕБИКАРА И НАЛОКСОНА

К настоящему времени накоплен значительный материал, позволяющий говорить о нейротропном действии мебикара [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7] и налоксона [8, 9]. Мибикар – 2, 4, 6, 8 – тетраметил – 2, 4, 6, 8 – тетразабицикло (3, 3, 0) актандион – 3,7 нетипичный – небензодиазепиновый транквилизатор, обладает отчётливым анксиолитическим действием без признаков общей седации и миорелаксации. Установлено, что мебикар сочетает свойства транквилизатора и нейролептика: он усиливает эффекты снотворных и наркотических веществ, снижает температуру тела, проявляет антиагрессивный эффект, не оказывает противосудорожного действия, негативного влияния на функцию внимания и не снижает показателей умственной и физической работоспособности [1, 2]. Следует отметить, что исследования влияния мебикара проведены, в основном, на целостном организме [1, 2, 4, 5, 7].

Налоксон–((-)-17-аллил-4,5-эпокси 3,14-дигидроксиморфинан-6-он) гидрохлорид дигидрат применяется главным образом при острой интоксикации наркотическими анальгетиками. Он эффективен также при алкогольной коме и различных видах шока, что, как предполагается, связано с его способностью конкурентно вытеснять эндогенные опиоиды, концентрация которых повышается при шоке и некоторых формах стресса [8].

Целью нашей работы явилось изучение влияния мебикара и налоксона на функциональное состояние нейронов нервной системы улитки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовались параметры электрической активности идентифицированных нейронов ППа1, ППа2, ППа7 правого парietального ганглия моллюска *Helix albescens*, под действием мебикара и налоксона. Внутриклеточное микроэлектродное отведение биопотенциалов проводилось при комнатной температуре с использованием стандартных методических приёмов по программе: фон - аппликация - отмывание. Исследуемые вещества разводились до нужных концентраций стандартным раствором Рингера для холоднокровных. На каждую концентрацию вещества приходилось не менее 10 нейронов. Чтобы исключить эффект накопления воздействия веществ в каждом опыте изучалось функциональное состояние только одного нейрона. Более подробно методика была описана ранее [9, 10, 11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование влияния мебикара на электрическую активность нейронов проводилось в концентрациях 10^{-5} ; 10^{-4} ; 10^{-3} ; 10^{-2} М.

Эффекты воздействия этого соединения на все исследованные популяции нейронов были однонаправленными и выраженность их у разных идентифицированных нейронов при конкретной концентрации была примерно одинаковой. В пороговой концентрации (10^{-4} М) мебикар увеличивал только амплитуду потенциалов действия (ПД) на 3 ± 1 мВ ($p < 0,05$), а с увеличением концентрации до 10^{-3} М, на фоне незначительного сдвига мембранного потенциала (МП) в сторону деполяризации, происходило увеличение амплитуды ПД на 26 ± 1 мВ ($p < 0,01$) (рис.1). При этом, наблюдалось уменьшение длительности ПД (на 5 ± 1 мс ($p < 0,01$)), амплитуды и продолжительности следовой гиперполяризации (на 11 ± 1 мВ ($p < 0,01$) и 49 ± 2 мс ($p < 0,01$) соответственно). Как известно ПД возникает по закону «все», вследствие этого становится маловероятным такое значительное увеличение амплитуды ПД только за счет усиления натриевого тока. Поэтому мы полагаем, что наряду с усилением натриевого тока мебикар может усиливать входящий кальциевый ток. Факт уменьшения длительности ПД и следовой гиперполяризации, возможно объясняется тем, что мебикар способен ускорять процессы активации/инактивации ионных каналов обеспечивающих развитие соответствующих процессов в клетке. Подтверждением подобного предположения может служить и уменьшение амплитуды следовой гиперполяризации, которая также наблюдается при более быстрой инактивации выходящего калиевого тока.

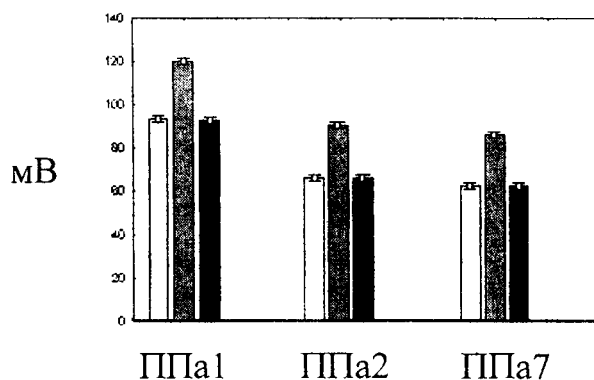


Рис. 1. Гистограмма усредненных значений амплитуды ПД, для трех типов идентифицированных нейронов. Фон (□), через 5 мин. аппликации мебикара (10^{-3} М) (▨) и через 20 мин. отмывания (■).

В концентрации 10^{-2} М мебикар первоначально приводил к возрастанию амплитуды ПД на 30 ± 2 мВ ($p < 0,05$), а затем происходило постепенное угнетение генерации импульсов, вплоть до полного их исчезновения на 2 минуте экспозиции вещества. Следовательно в больших концентрациях мебикар оказывает двойственный эффект: сначала облегчает активность нейронов, а затем полностью

подавляет ее. На наш взгляд, объяснением двойственного эффекта мебикара может служить предположение о том, что точкой приложения препарата являются структуры, локализованные во внутриклеточном пространстве нейрона, и требуется некоторое время для создания эффективной концентрации вещества в цитоплазме. Поэтому логично предположить возможность мебикара изменять метаболические процессы целостной клетки, от динамики которых зависит функциональная лабильность ионных каналов. Однако, нельзя отрицать того, что данный препарат в той или иной степени влияет на поверхностную мембрану клетки.

При отмывании стандартным раствором Рингера не зависимо от применяемых надпороговых концентраций мебикара происходило восстановление исходных биофизических показателей на 20-30 минуте у всех исследуемых нейронов, без выраженного последствия препарата. То есть, наши данные подтверждают сведения о малой токсичности мебикара и, кроме того, могут служить объяснением отсутствия негативного влияния на функции нервной системы.

В отдельной серии экспериментов нами изучалось влияние налоксона на биофизические показатели мембраны идентифицированных нейронов. Аппликация налоксона осуществлялась в следующих концентрациях 10^{-6} ; 10^{-5} ; 10^{-4} ; 10^{-3} М. В концентрации 10^{-6} М видимый эффект отсутствовал. При увеличении концентрации до 10^{-5} М налоксон вызывал у всех нейронов недостоверное уменьшение амплитуды ПД. Поэтому эту концентрацию вещества мы сочли пороговой. В концентрации налоксона 10^{-4} М амплитуда ПД у нейронов ППа1, ППа2, и ППа7 уменьшилась на 8 ± 1 мВ, $9,5 \pm 1,5$ мВ, 5 ± 1 мВ ($p < 0,01$) соответственно (рис. 2, А). Как видно из рисунка у нейрона ППа7 амплитуда ПД под действием налоксона изменяется в меньшей степени, нежели у других нейронов. Другой особенностью этого нейрона было и то, что с уменьшением амплитуды ПД не изменялась его продолжительность, в то время как у нейронов ППа1 и ППа2 временные показатели ПД увеличивались на $3,1 \pm 0,4$ мс, и $1,5 \pm 0,1$ мс ($p < 0,05$) соответственно (рис. 2, Б). Подобная специфичность ответа ППа7, по-видимому, связана с низким уровнем содержания в этой клетке кальция и практически отсутствующим кальциевым током [10, 11], а как известно [8], налоксон в большей степени угнетает именно медленный кальциевый ток. Проявляющиеся у нейронов ППа1 и ППа2 эффекты можно объяснить тем, что помимо кальциевого тока, налоксон действует угнетающе на калиевый и быстрый входящий натриевый токи [8]. Исходя из этого, можно было предположить, что налоксон должен увеличивать длительность следовых процессов. Анализ продолжительности следовой гиперполяризации подтвердил наши предположения: так у нейрона ППа1 она увеличилась на 220 ± 20 мс ($p < 0,01$), ППа2 - на $77,5 \pm 5,5$ мс ($p < 0,01$) и ППа7 - на 65 ± 3 мс ($p < 0,01$) (рис. 2, В).

Вопрос о том, что является причиной наблюдаемых изменений: то ли они происходят из-за вытеснения эндогенных морфинов; то ли налоксон непосредственно влияет на процессы протекающие в клетке остается открытым и требует дальнейшего изучения.

С увеличением концентрации налоксона до 10^{-3} М во второй половине первой минуты экспозиции вещества наблюдалось угнетение импульсной активности исследованных нейронов. Следует отметить, что в процессе отмывания все

электрофизиологические показатели нейронов восстанавливались до исходного уровня. Время восстановления находилось в зависимости от величины применяемой нами концентрации вещества. Так, при концентрации налоксона 10^{-4} М время восстановления составляло 20 минут, а при концентрации 10^{-3} М - 30 минут.

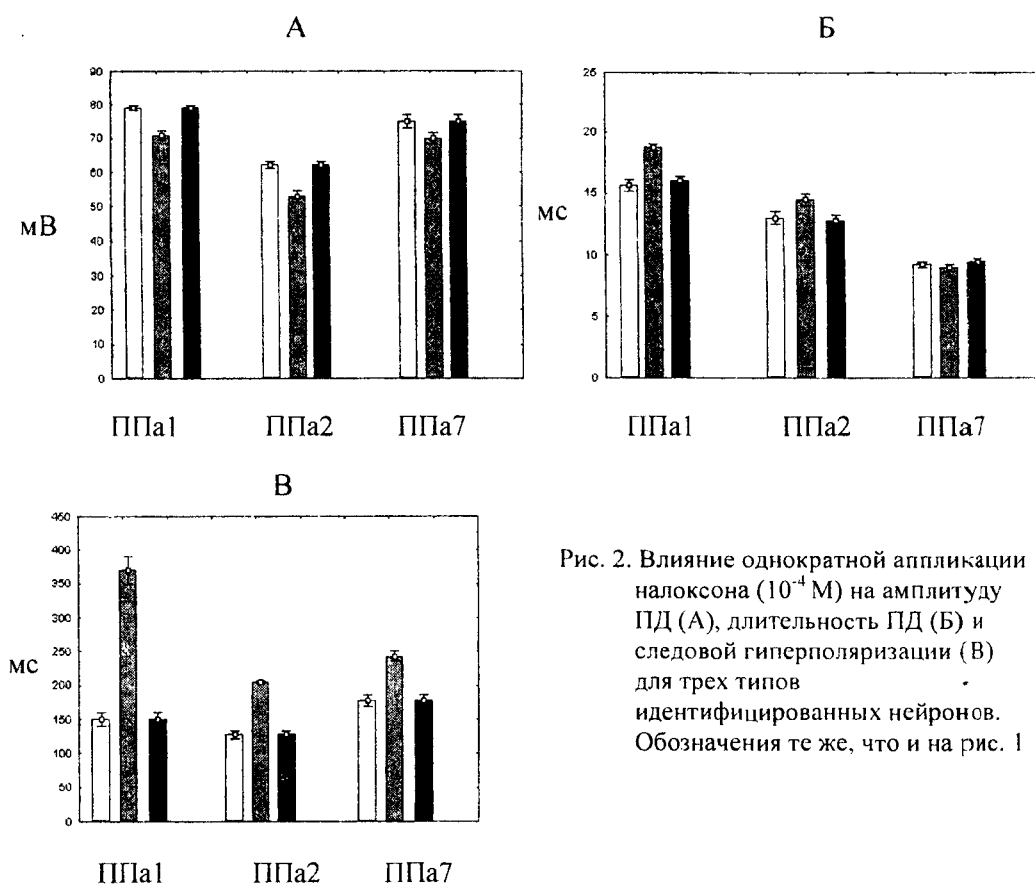


Рис. 2. Влияние однократной аппликации налоксона (10^{-4} М) на амплитуду ПД (А), длительность ПД (Б) и следовой гиперполяризации (В) для трех типов идентифицированных нейронов. Обозначения те же, что и на рис. 1

Таким образом, наши данные указывают на то, что мебикар и налоксон являются нейротропными соединениями с малой степенью токсичности. Для мебикара характерно ярко выраженное активирующее влияние, проявляющееся в ускорении основных биофизических процессов в клетке, а для налоксона обратное – ведущее к их замедлению.

Список литературы

1. Карпов А.М., Зимакова И.Е., Камбург Р.А. Влияние мебикара на психофизиологические процессы и работоспособность в эксперименте и клинике // Фармакологическая регуляция физической и психической работоспособности: Тез. Докл. Всесоюз. Конф. – М., 1980. – С.31.
2. Зимакова И.Е., Карпов А.М., Камбург Р.А. Влияние мебикара на физическую и психическую работоспособность // Казанский мед. журнал – 1982. - №4. - С. 59 – 61.

**ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ НЕЙРОНОВ
ПРИ ДЕЙСТВИИ МЕБИКАРА И НАЛОКСОНА**

3. Карпов А.М. Обоснование применения нового транквилизатора мебикара для лечения некоторых форм психических заболеваний. Автореф. дис. канд. мед. наук. Л. – 1980. – 19 с.
4. Зимакова И.Е. Экспериментальное обоснование возможности применения в медицине нового биологически активного класса химических веществ – производных бициклических биомочевин. Автореф. дис. доктора мед. наук. – 1979. – 20 с.
5. Зимакова И.Е., Карпов А.М., Камбург Р.А. Влияние транквилизатора мебикара на электролитный баланс // Казанский мед. журнал. – 1975. – №5. – С. 75
6. Глод Г.Д., Морозов И.С., Сытник С.И. Влияние транквилизаторов на мотивационные компоненты и тактику деятельности оператора // Космическая биология и авиакосмическая медицина – 1983. - №3. - С. 58 – 62.
7. Осадчий О. Е., Покровский В. М. Кардиоваскулярные эффекты блокатора опиоидных рецепторов налоксона. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. – Т. 63. - №3. – С. 72 – 75.
8. Безрукова Л. В., Солнцева Е. И. Налоксон зависимое снижение ответов нейронов улитки на серотонин, вызванное морфином. // Нейрофизиология. – 1981. – Т13. – №6. – С. 589-594
9. Сахаров Д.А. Генеалогия нейронов. – М.: Наука, 1974. – 184 с.
10. Коваль Л.М., Кононенко Н.И. Новые идентифицируемые нервные клетки виноградной улитки *Helix pomatia*, связанные с генерацией ритмоводящей активности. // Журнал высш. нерв. деят. – 1992. – Т. 42. – В. 6. – С. 1124 – 1131.
11. Кононенко Н.И., Костюченко О.В. Механизмы генерации ритмоводящей активности в идентифицированных нейронах виноградной улитки // Нейрофизиология. – 2001. – Т.33. – №1. – С. 46-54.
12. Кононенко Н.И. О возможности взаимодействия синаптических и ритмоводящих механизмов электрической активности в пачечном нейроне виноградной улитки // Нейрофизиология. – 1981. – Т.13. – №1. – С.67-74.
13. Кононенко Н.И., Осипенко О.Н. Постсинаптические механизмы инициации пачечной активности в нейроне ППа1 виноградной улитки под влиянием интернейрона // Нейрофизиология. – 1987. – Т.19. – №1. – С.28-36.
14. Кононенко Н. И. Влияние теофеллина на электрическую активность нейрона ППа2 виноградной улитки. // Нейрофизиология. – 1981. – Т.13. – №6. – С. 655-658

Поступила в редакцию 10.10.2002 г.