Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология» Том 16 (55). 2003 г. № 4. С. 50-54.

УДК 612.014.46:615.214:547.78

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НЕЙРОНОВ ППа1 ПОД ВЛИЯНИЕМ ДИБАЗОЛА И БЕМИТИЛА

Гамма Т. В., Коренюк И. И., Баевский М. Ю.

Результаты исследований указывают на то, что производные бензимидазола обладают эффективными психостимулирующими, противосудорожными, антидепрессантными свойствами [1-3]. Широко известные фармпрепараты дибазол и бемитил проявляют адаптогенные и актопротекторные свойства [3, 4]. Однако, пока что остаются неизвестными механизмы действия данных веществ на нейроны, мембрана которых также является местом приложения этих соединений.

В предыдущих наших работах для исследованных нейронов правого париетального и висцерального ганглиев установлена пороговая концентрация (10^{-5} М) дибазола и бемитила, при которой эффекты воздействия соединений были слабовыраженными [5, 6]. В более высоких концентрациях эти вещества чаще всего угнетали функциональное состояние нейронов. С теоретической и практической точки зрения представляет интерес выяснение механизма действия данных веществ на электрическую активность отдельных нейронов, что и составляло цель данного исследования.

МЕТОДИКА

Внутриклеточно была зарегистрирована электрическая активность нейронов ППа1 моллюска Helix albescens Rossm. Изучено влияние производных бензимидазола (фармпрепаратов дибазола и бемитила) в диапазоне концентраций 10^{-4}-10^{-2} М на параметры потенциала действия (ПД) нейронов. В общем, основные методические приемы были описаны ранее [5]. В этой работе основное внимание было уделено анализу первой производной ПД. Для этого была разработана специальная компьютерная программа, которая позволяла производить непрерывную запись мембранного потенциала (МП) и ПД в течение заданного времени с возможностью последующего просмотра, масштабирования, разделения полученных данных на отдельные файлы, получения первой производной любого из зарегистрированных ПД. Кривые первой производной ПД использовали для оценки максимумов скорости нарастания и спада ПД [7], что позволяло выяснить, на какие механизмы генерации ПД влияют исследованные соединения. Результаты обрабатывали с использованием стандартних приемов, вычисляя среднее и ошибку среднего M±m.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных показал, что дибазол в концентрации 10^{-4} М не оказывал влияния на МП, однако влиял на процессы генерации ПД. На рис. 1. представлены типичные эффекты воздействия дибазола на нейрон ППа1. Анализ амплитудных параметров ПД показал, что дибазол в концентрациях 10^{-4} и 10^{-3} М несколько снижал амплитуду ПД. При этом, значительно уменьшалась максимальная скорость нарастания ПД (от 11,1±0,35 В/с в фоне до 7,14±0,25 В/с). Поскольку это является показателем снижения максимальной плотности тока, входящего в клетку во время восходящей фазы ПД [4], то очевидным является то, что дибазол замедляет входящий Na^+- ток. Однако, из литературы известно, что у нейронов улитки, в частности у ППа1, роль переносчиков входящего тока выполняют не только ионы Na^+, но и Ca^{2+} [8]. Поэтому, не исключено, что дибазол ингибирует и входящий кальциевый ток. В дальнейшей нашей работе мы планируем экспериментально доказать это предположение.

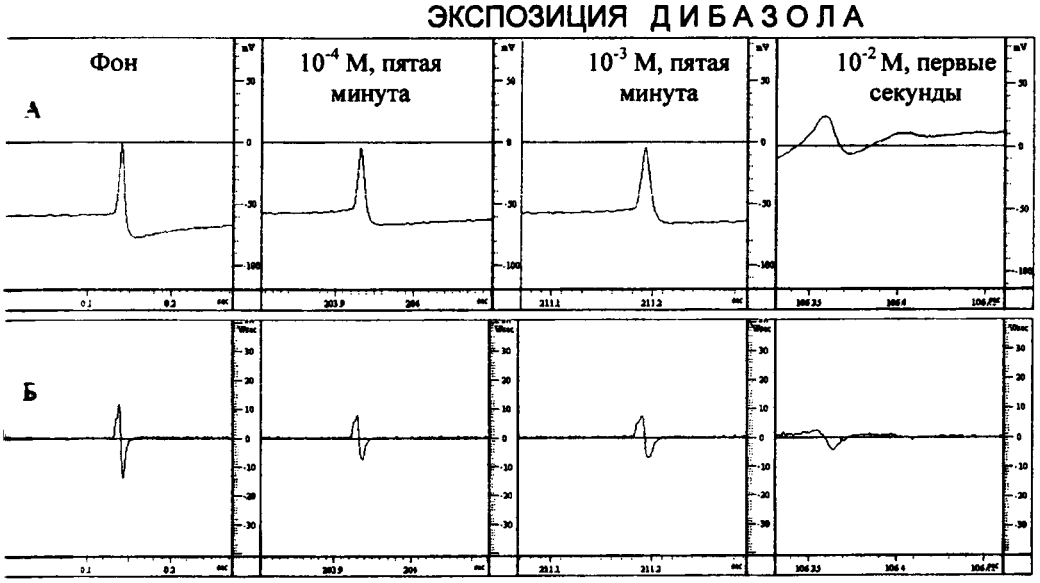

Рис. 1. Влияние дибазола на ПД нейрона ППа1:
А – потенциалы действия и Б – их первая производная.

Наряду с уменьшением скорости нарастания ПД дибазол значительно уменьшал максимальную скорость его спада (от 13,35±1,8 В/с в фоне до 7,2±1,4 В/с). Это свидетельствует о подавлении дибазолом и выходящего задержанного калиевого тока, который, как известно [7], обеспечивает нисходящую фазу ПД. Таким образом, дибазол в концентрации 10^{-4} и 10^{-3} М оказывает угнетающее действие, как на входящие, так и на выходящие токи, обеспечивающие генерацию ПД.

При увеличении концентрации дибазола до 10^{-2} М наблюдается более быстрое и существенное чем при концентрациях 10^{-4} и 10^{-3} М его влияние на функциональное состояние нейрона ППа1 (рис. 1). Это выражалось в том, что уже в течение первых нескольких секунд экспозиции происходило падение МП вплоть до

ноля. При его снижении на 30-35 мВ нейроны еще могли генерировать редуцированные ПД, амплитуда которых не превышала 20 мВ, а при дальнейшем снижении МП происходило прекращение генерации ПД. Анализ кривых первой производной показал, что дибазол в первую очередь снижает максимум скорости нарастания ПД, в то время как максимальная скорость его спада снижается несколько медленнее. Из этого следует, что дибазол сначала подавляет входящий ток, а затем и выходящие токи. В целом, наши данные свидетельствуют, что дибазол в концентрации 10^{-2} М блокирует все ионные токи, участвующие в генерации ПД. Поскольку после 10-20 мин отмывания происходило восстановление генерации ПД, хотя их параметры и существенно отличались от фоновых, можно считать, что влияние дибазола является частично обратимым.

Анализ первой производной ПД при действии дибазола в разных концентрациях позволил выяснить динамику выявленной на кривых задержки скорости нарастания ПД (рис. 1, Б). Так, в концентрации 10^{-4} М эта задержка была слабо выраженной. С увеличением концентрации до 10^{-3} М задержка наступает быстрее, после чего отмечен выход кривой первой производной на плато. В концентрации 10^{-2} М дибазол полностью подавляет импульсную активность нейрона. Поскольку задержка на кривой отражает инактивацию Na^{+}-каналов, можно сделать вывод, что дибазол дозозависимо их инактивирует.

Влияние бемитила во многих чертах было аналогично дибазолу (рис. 2, А). Из рисунка видно, что бемитил в концентрации 10^{-4} М видимых изменений амплитуды ПД не вызывал, о чем свидетельствует и максимум скорости нарастания ПД (рис. 2, Б). При сопоставлении фоновых ПД и зарегистрированных при экспозиции вещества обнаруживалось уменьшение продолжительности ПД.

При анализе скорости спада фоновых ПД, соответствующей его нисходящей фазе, обнаруживалась выемка (рис. 2, Б), которая свидетельствует о том, что на выходящий ток накладывается противоположный по направлению входящий кальциевый ток [7, 9]. Во время экспозиции бемитила выемка сглаживалась, что указывает на уменьшение и/или подавление данным соединением именно входящего Ca^{2+}-тока. По-видимому, этим и объяснится уменьшение продолжительности ПД под действием вещества. Увеличение концентрации бемитила до 10^{-3} М приводило к появлению медленных колебаний МП и его смещению на 18,4± 2,7 мВ в сторону деполяризации. Через 3-5 мин экспозиции МП оставался на этом же уровне, а его колебания исчезали. При этом максимум скорости нарастания ПД снижался на 5,36±0,43 В/с. В дозе 10^{-2} М бемитил через 2-3 с экспозиции приводил к резкому деполяризационному сдвигу МП (на 23±5,36) и снижению амплитуды ПД, а через 5-20 с развивалась гиперполяризация мембраны, прекращалась генерация ПД, а затем МП падал до ноля. Можно полагать, что эта гиперполяризация мембраны обусловлена открытием хлорных каналов и входом ионов Cl^{-} в клетку.

При этом снижался как максимум скорости нарастания (на 20,3 ±2,27 В/с), так и скорости спада (на 12,6±2,04 В/с) ПД. Поскольку при этой концентрации в конечном счете МП падал до ноля, после отмывания импульсная активность не

восстанавливалась, и нейрон не генерировал ПД на стимуляцию входящим деполяризующим током, сделан вывод о том, что бемитил в дозе 10^{-2} М приводит к гибели клетки.

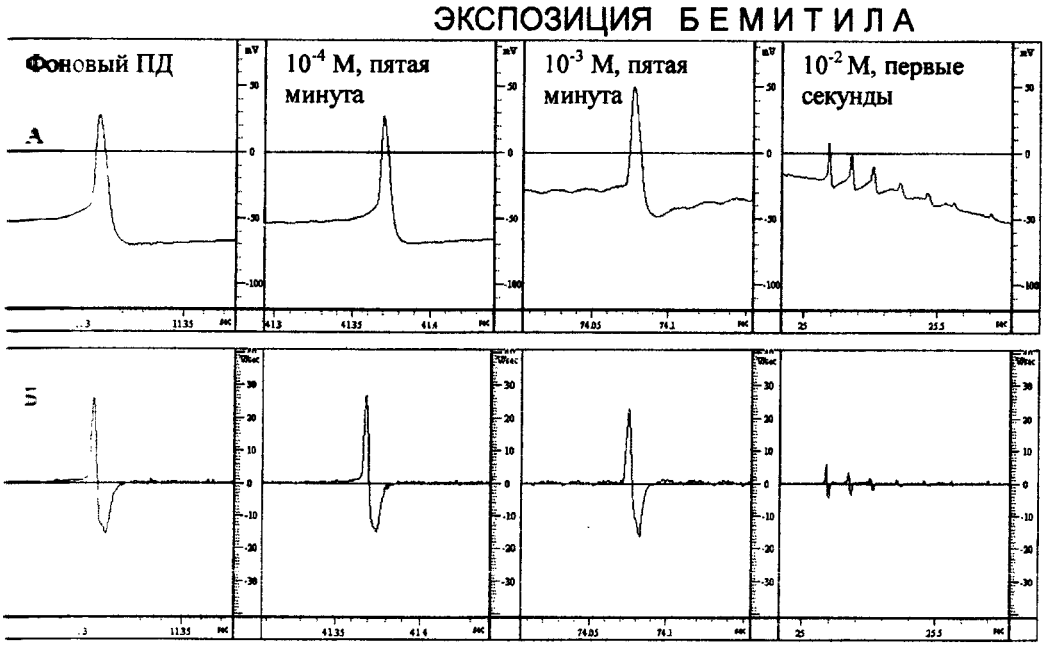

Рис. 2. Влияние бемитила на электрическую активность нейрона ППа1: А – потенциалы действия и Б – их первая производная.

При сопоставлении эффектов воздействия на нейроны ППа1 дибазола и бемитила в концентрации 10^{-2} М обнаружены и некоторые различия в их действии. Так, эффекты действия дибазола проявлялись в деполяризации мембраны и были частично обратимыми, а бемитила – в ее гиперполяризации. Таким образом, хотя дибазол и бемитил в высоких концентрациях вызывали прекращение ритмической активности, однако механизмы их угнетающего действия были различными. В случае дибазола потеря импульсной активности соответствует классическому представлению такого процесса при деполяризации мембраны, связанного с нарушением работы Na^+-каналов. Бемитил же блокировал как Na^+-каналы, так и нарушал функциональное состояние K^+- и/или Cl^--каналов. Не исключено, что дибазол и бемитил, кроме всего прочего, влияют и на метаболические процессы клеток, изменяя тем самым их функциональное состояние.

В пользу угнетающего действия тестируемых соединений свидетельствует и тот факт, что у нейронов, которые внезапно прекращали генерировать фоновые импульсы, но отвечали и на деполяризационные толчки полноценными ПД, дибазол и бемитил в различных концентрациях не приводили к генерации импульсов. Причем, при аппликации веществ в концентрациях 10^{-4} и 10^{-3} М нейроны отвечали на деполяризацию входящим током, а в 10^{-2} М – нет. В целом, можно было бы

сказать, что оптимальными концентрациями являются 10^{-4} и 10^{-3} М, а 10^{-2} М – пессимальной.

Необходимо отметить, что в оптимальных концентрациях дибазол на фоне деполяризации мембраны увеличивал частоту генерации импульсов. Очевидно, этим могут объясняться его психостимулирующие и антидепрессантные эффекты, на которые указывают некоторые авторы [1-3]. В то же время, в высоких дозах дибазол резко снижает амплитуду ПД вплоть до прекращения импульсной активности, что дает основание предположить наличие у дибазола противосудорожных свойств. Поскольку бемитил дозозависимо приводил к урежению частоты генерации ПД и уменьшению их амплитуды, по-видимому, он также может проявлять противосудорожные свойства. Таким образом, на основе полученных данных можно сделать вывод о том, что дибазол и бемитил оказывают в высоких дозах угнетающий нейротропный эффект, проявляющийся в полном, в случае бемитила, и частичном, в случае дибазола, подавлении как входящих натриевых и кальциевых ионных токов, так и выходящего калиевого тока.

Список литературы

1. Шаймарданова Г.С., Камбург Р.А., Евстигнеева Р.П., Сергеева Н.В. Имидазол и его производные как биологически активные вещества // Хим-фарм. Журнал. – 1992. – №3. – С. 31-37.
2. Розин М.А. Фармакология патологических процессов. – Л.: Наука. – 1951. – С. 269-290.
3. Розин М.А. Синтез белка и резистентность клеток. – Л.: Наука, 1971.- С.3-6.
4. Бобков Ю.Г., Виноградов В.М. Фармакологическая регуляция процессов утомления. – М.: Медицина. – 1982. – С. 7-33.
5. Гамма Т.В., Коренюк И.И. Баевский М.Ю., Замотайлов А.А., Кобылянская Л.А. Эффекты воздействия бензимидазола и некоторых его производных на параметры электрических потенциалов нейронов моллюска // Ученые записки ТНУ, серия «Биология, Химия». – Т. 16 (55). – №1. – 2003. – С. 20-27.
6. Gamma T.V., Korenyuk I.I., Baevsky M.Yu., Ravaeva M.Yu., Pavlenko V.B. The Effect Of The Influence Of Some Benzimidazole Derivatives On The Components Of Mollusc's Neuron Potentials // J. Neurophysiology. – Vol. 34. – № 2/3. – 2002. – P.147-149
7. Магура И.С. Проблемы электрической возбудимости нейрональной мембраны. – Киев: «Наукова Думка». – 1981. – 208 с.
8. Костюк П.Г., Магура И.С. Исследования электроуправляемых ионных каналов соматической мембраны нервной клетки // Физиологический журнал. – Т. 30. – №3. – 1984. – С. 267-277.
9. Магура И.С., Вихрева Л.А. Электроуправляемые калиевые каналы соматической мембраны нейронов моллюска // Нейрофизиология. – Т.16. – №3. – 1984. – С. 296-307.

Поступила в редакцию 01.10.2003 г.