

УДК 612.014.46:615.214:547.78

ВЛИЯНИЕ БЕНЗИМИДАЗОЛА НА НЕЙРОНЫ МОЛЛЮСКА

Коренюк И. И., Гамма Т. В.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение эффектов воздействия биологически активных веществ – актуальное направление современных нейрофармакологических исследований. В данном аспекте интересными являются работы, в которых обнаружено, что бензимидазол и его производные способны оказывать существенные воздействия на нервную систему. Как оказалось, некоторые из них обладают психостимулирующими, нейролептическими, антидепрессантными, транквилизирующими, противосудорожными и снотворными свойствами [1-5]. К таким выводам авторы пришли на основании анализа поведенческой активности экспериментальных животных, проявляющихся как при разовом, так и при курсовом действии исследованных препаратов. Ввиду того, что в литературе отсутствуют данные по влиянию бензимидазола на функциональное состояние нейронов как основного субстрата проявления вышеперечисленных свойств, в нашей предыдущей работе [6] были получены результаты, свидетельствующие о наличии нейротропного эффекта у данного соединения. Определена его пороговая концентрация (10^{-5} М), а также направленность нейротропного эффекта, который был угнетающим. Поскольку вопрос о механизме действия бензимидазола все-таки оставался открытым, то целью этой работы было выяснение механизмов влияния бензимидазола на электрические потенциалы нейронов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При внутриклеточном отведении электрической активности нейронов было изучено влияние бензимидазол гидрохлорида в диапазоне концентраций 10^{-5} – 10^{-2} М. Это вещество разводили в растворе Рингера того же состава, что омывал препарат. В ванночку (объем 0,5 мл), в которой находился препарат ганглия, вводили 1 мл соответствующей концентрации раствора вещества, что обеспечивало полную замену раствора Рингера на тестируемый раствор.

Отводимые биопотенциалы усиливали с помощью универсальной физиологической установки УФУ-БКН (полоса пропускания 0-10 кГц) и через лабораторный интерфейс подавали на компьютер IBM PC. Регистрация временных и амплитудных параметров потенциалов нейронов и их обработка обеспечивались компьютерной программой «Action Potential» (автор Замотайлов А.А.), которая позволяла производить непрерывную запись электрических потенциалов в течение всего эксперимента с возможностью последующего просмотра, масштабирования, разделения полученных данных на отдельные файлы, а также получения первой производной любого из зарегистрированных потенциалов действия (ПД) по методу Савицкого-Голая [7].

ВЛИЯНИЕ БЕНЗИМИДАЗОЛА НА НЕЙРОНЫ МОЛЛЮСКА

Наличие эффектов влияния соединения определялось по сопоставлению соответствующих параметров электрических потенциалов в фоне с таковыми, которые развивались через 0.5, 1.0, 5.0 мин и более от момента аппликации вещества и от начала отмывания. Основное внимание в работе было уделено анализу первой производной ПД. Кривые первой производной ПД использовали для оценки максимумов скорости нарастания и спада ПД [8], что позволяло выяснить, на какие механизмы генерации ПД влияет исследованное соединение. Обработка результатов проводилась с использованием t-критерия Стьюдента для зависимых выборок в программе Statistica 5.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Была зарегистрирована активность 15 нейронов ППа1, 10 - ППа2, 5 - ППа7 и 18 неидентифицированных нейронов висцерального ганглия (ВГ).

Поскольку при пороговой концентрации (10^{-5} М) у исследованных нейронов эффекты влияния бензимидазола выражены слабо, то в настоящем исследовании тестируемое вещество апплицировали в сверхпороговых концентрациях. При этом наблюдалось достаточно выраженное изменение анализируемых параметров потенциалов.

На рис. 1 представлены сводные данные о скоростях нарастания и спада ПД у всех исследованных нейронов при действии на них бензимидазола. Из рисунка видно, что с увеличением концентрации от 10^{-4} до 10^{-2} М бензимидазол дозозависимо снижал максимум скорости нарастания первой производной ПД (от $25,2 \pm 2,4$ В/с в фоне до $5,15 \pm 1,4$ В/с при воздействии) у всех исследованных нейронов (рис. 1.1). Наблюдалось также снижение максимума скорости спада (от $17,8 \pm 1,1$ В/с в фоне до $4,4 \pm 1,5$ В/с) первой производной ПД (рис. 1.2). При концентрации 10^{-2} М отмечено резкое снижение как максимума скорости нарастания, так и скорости спада первой производной ПД. При этой концентрации нейроны прекращали генерировать ПД. Необходимо указать, что после отмывания бензимидазола в концентрациях вещества 10^{-4} и 10^{-3} М нейроны восстанавливали импульсную активность, а в 10^{-2} М – эффекты были необратимыми. Исходя из того, что при действии бензимидазола снижались параметры первой производной, можно заключить, что механизм этого влияния выражался в ингибировании как входящих, так и выходящих ионных токов.

Несмотря на то, что направленность влияния бензимидазола была, как правило, угнетающей, выраженность эффектов у некоторых исследованных нейронов могла существенно отличаться (рис. 2 и 3). Так, если при концентрации вещества 10^{-4} М реакции нейронов были аналогичны вышеописанному, то при 10^{-3} М у трех из 15-ти исследованных нейронов ППа1 появлялись ярко выраженные тормозные постсинаптические потенциалы (ТПСП) амплитудой 10-25 мВ и продолжительностью от 20 до 100 мс, приводившие к гиперполяризации мембраны и редукции импульсной активности (рис. 2, А). Интересно то, что на пятой минуте от начала аппликации эти нейроны начинали генерировать полноценные ПД, между которыми возникали одиночные или серии ТПСР. (рис. 2, Б). Подобные эффекты были получены и другими исследователями [9] при изучении эффектов

бикукуллина и пикротоксина на быстрые и медленные ТПСР пирамидных нейронов гиппокампа крыс. Однако механизм, лежащий в основе чередования гиперполяризационного ответа с деполяризационным, они не описывают. Мы, как и другие авторы [10] считаем, что такое внезапное возобновление генерации ПД объясняется гетерогенностью пластических свойств хеморецептивной соматической мембраны нейрона. После 20 мин отмывания импульсная активность восстанавливалась.

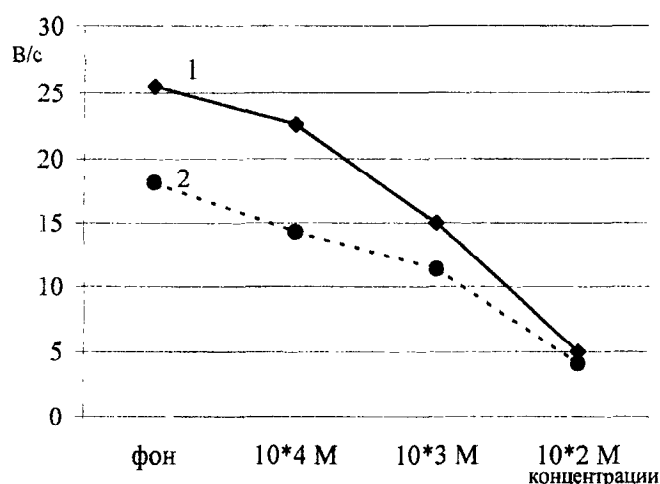


Рис. 1. Зависимость максимумов скорости нарастания (1) и спада (2) первой производной потенциала действия от концентрации бензимидазол гидрохлорида.

Необходимо отметить и то, что на некоторые низкочастотные неидентифицированные нейроны ВГ бензимидазол в концентрации 10^{-4} и 10^{-3} М оказывал возбуждающее влияние, проявляющееся в увеличении частоты импульсации (рис. 2, В). Таким образом, не исключено, что угнетающий эффект тестируемого вещества на нейрон ПШа1 может быть опосредован влиянием на синаптически связанные с ним нейроны.

При увеличении концентрации соединения до 10^{-2} М у нейронов ПШа1 первоначально наблюдался сдвиг мембранного потенциала в сторону деполяризации, увеличение частоты импульсации и резкое снижение амплитуды ПД. Затем развивались ТПСР и гиперполяризация мембраны. После 20 мин отмывания импульсная активность нейронов не восстанавливалась.

Аналогичные эффекты воздействия вещества можно было наблюдать и у некоторых неидентифицированных нейронов ВГ (рис. 3, А, В). Как видно из рисунка, бензимидазол в концентрации 10^{-3} М приводил на фоне деполяризации мембраны к увеличению частоты генерации импульсов. Затем происходило постепенное увеличение мембранного потенциала, и развивались ТПСР (рис. 3, Б). При увеличении концентрации вещества до 10^{-2} М эффект воздействия бензимидазола у неидентифицированных нейронов проявлялся так же, как и у нейрона ПШа1, то есть развивались ТПСР и гиперполяризация мембраны. Отличие заключалось в том, что у неидентифицированных нейронов во время фазы реполяризации после ТПСР

ВЛИЯНИЕ БЕНЗИМИДАЗОЛА НА НЕЙРОНЫ МОЛЛЮСКА

возникали пиковые потенциалы (рис. 3, Г), амплитуда которых не превышала 5 мВ, и при отмывании импульсная активность не восстанавливалась.

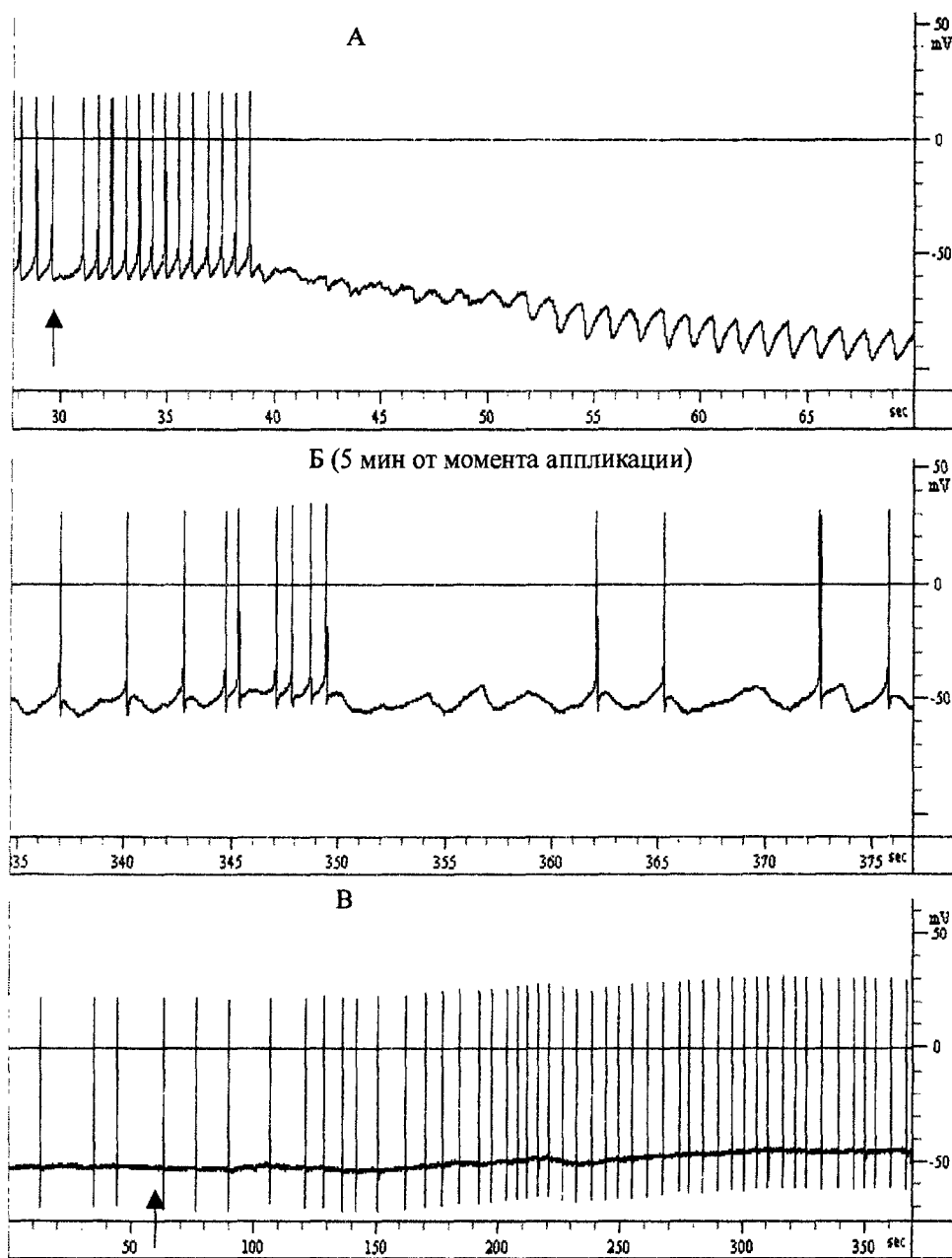


Рис. 2 Влияние бензимидазола в концентрации 10^{-3} М на нейрон ППа1 (А, Б) и неидентифицированный нейрон висцерального ганглия (В). Стрелкой обозначен момент аппликации.

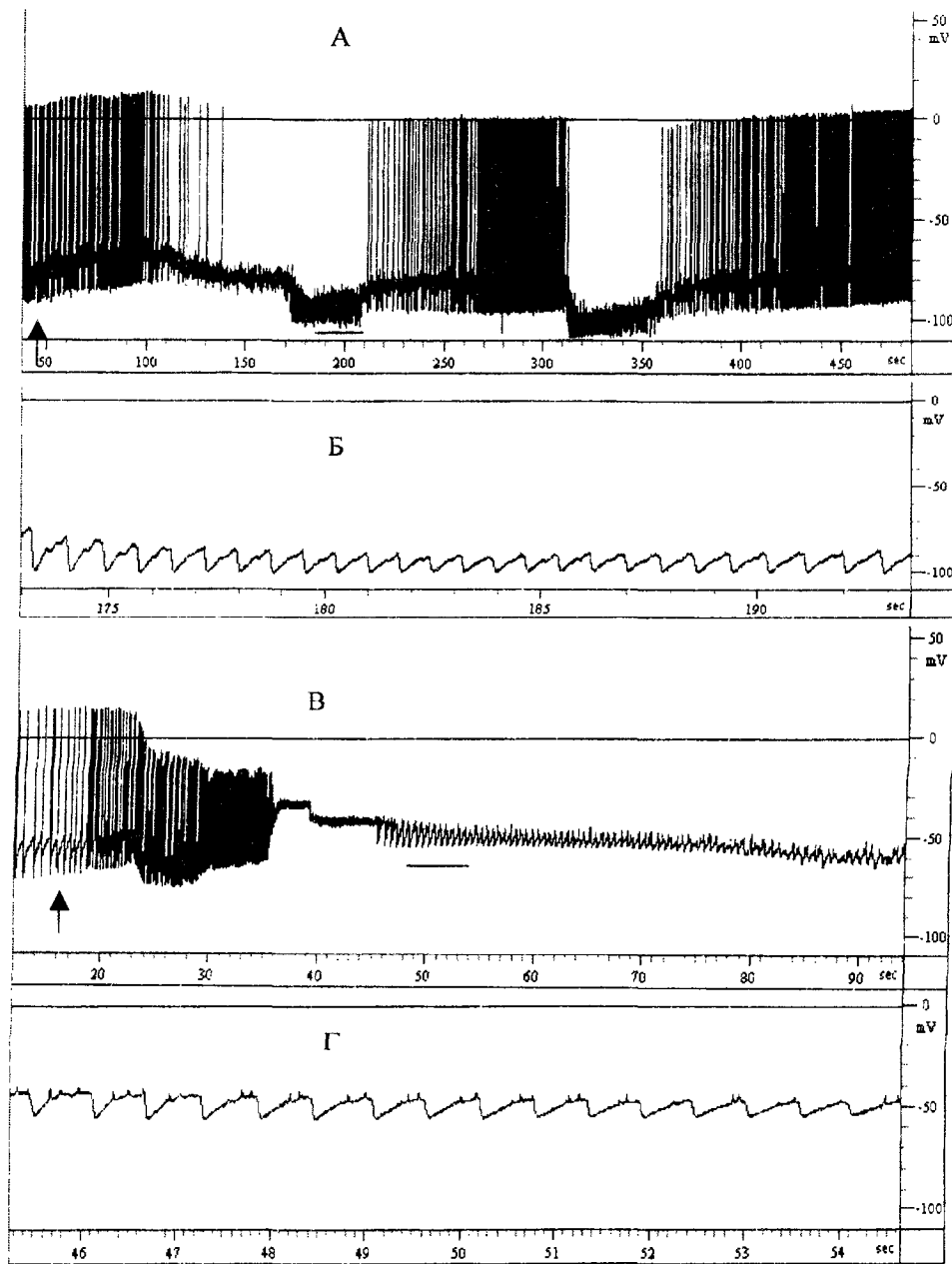


Рис. 3 Влияние бензимидазола в концентрации 10^{-3} М (А, Б) и 10^{-2} М (В, Г) на неидентифицированный нейрон висцерального ганглия.

Чертой на А и В обозначены увеличенные фрагменты Б и Г соответственно.

Мы полагаем, что появление ТПСР у нейронов ПШа1 и некоторых неидентифицированных нейронов ВГ при аппликации бензимидазола свидетельствует об опосредованном его влиянии на эти нейроны. По-видимому, механизм такого эффекта заключается в том, что тестируемое соединение оказывает возбуждающее

ВЛИЯНИЕ БЕНЗИМИДАЗОЛА НА НЕЙРОНЫ МОЛЛЮСКА

действие на пресинаптические неидентифицированные нейроны, которые, в свою очередь, их тормозят. Не исключено, однако, и то, что бензимидазол выключает возбуждающие входы этих нейронов и тем самым облегчает проявление тормозных влияний. Возможно, появление ТПСП связано с активацией бензимидазолом кальцийнезависимой калиевой проводимости, поскольку, по данным некоторых авторов [9], в возникновении ТПСП непосредственное участие принимают ионы K^+ . Хотя нельзя исключить и хлорную природу ТПСП.

Таким образом, нами установлено, что прямой угнетающий нейротропный эффект бензимидазола проявляется в дозозависимом блокировании всех ионных токов, задействованных в процессе генерации электрических потенциалов в нервных клетках, причем обнаружена линейная зависимость изменения скоростей нарастания и спада первой производной ПД от концентрации соединения. Было выявлено также нетипичное опосредованное угнетающее влияние бензимидазола на нейрон IIIa1 и некоторые неидентифицированные нейроны ВГ через синаптически связанные с ними клетки. На основании того, что при воздействии бензимидазола появлялись ТПСП, регистрируемые от сомы этих клеток, можно предположить наличие на соме исследованных нейронов ЦНС улитки тормозных синапсов.

Список литературы

1. Аносов Н.Н., Розин М.А., Прозерин, ззерин, дибазол и их применение в невропатологии. - Л.: Наука, 1956. - С. 106.
2. Варганян Р.С., Мартиросян В.О., Власенко Э.В., Овасапян А.А. Синтез и биологическая активность производных 1-замещенных бензимидазолов и бензтриазолов // Химико-фармакологический журнал.-1997.- №7.- С. 38-40.
3. Анисимова В.А., Спасов А.А., Левченко М.В., Александрова Е.А. -2-арил-1-диалкиламиноалкилимидазо [1,2-а]-бензимидазолы и их антагонизм к ионам кальция. // Химико-фармакологический журнал.-1995.- №10.- С. 17-19.
4. Розин М.А. Анксиолитическая активность производных пиридо-(1, 2-а) бензимидазолов // Фармакология и токсикология.-1981.-Т.14, №1.-С.21-22.
5. Оганесян Э.Т., Ивашев М.Н., Погребняк А.В., Ширяев И.Н., Сараф А.С. Взаимосвязь электронная структура – активность производных пропена, 2-циниамилбензимидазолы и 2-(β-бензоилвинил)-1-метил-бензимидазолы // Химико-фармакологический журнал. М.-1995.-№10.- С. 28-30.
6. 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». - 2003. - Т. 16 (55), №1. - С. 20-27.
7. Press W.H. Numerical Recipes in C. The Art of Scientific Computing. - C.Univ.Press, 1997. - P. 650-655.
8. Магура И.С. Проблемы электрической возбудимости нейрональной мембраны. - Киев, «Наукова Думка», 1981. - 208 с.
9. Герасимов В.Д., Артеменко Д.П. Действие биккуллина и пикротоксина на быстрые и медленные ТПСП пирамидных нейронов в изолированных срезах гиппокампа крыс // Нейрофизиология, - 1990, - Т.22, №1. - С. 44-54.
10. Норекия Т.П., Логунов Д.Б. Сопоставление пластичности моносинаптических входов командных нейронов виноградной улитки с пластическими свойствами хеморецептивной мембраны в процессе ритмической стимуляции // Нейрофизиология. – 1985. - Т.17, №2. - С. 279-282.

Поступила в редакцию 08.12.2003 г.