

6. Lacy B. E., Weiser K., De Lee R. // Therapeutic Advances in Gastroenterology — 2009. — Vol. 2 (4). — P. 221—238.
7. Setnikar I., Ravasi M. T., Da Re P., Ravasi M. T. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapy. — 1960. — Vol. 130. — P. 356—363.
8. Vahedi H., Ansari R., Mir-Nasseri M. M., Jafari E. // Middle East Journal of Digestive Diseases. — 2010. — Vol. 2 (2). — P. 66—77.

## Контактная информация

**Эртузун Ирина Анатольевна** — к. б. н., старший научный сотрудник отдела организации доклинических исследований ООО «НПФ «Материа Медика Холдинг», e-mail: heifezia@materiamedica.ru

УДК 615.216.2:577.3:612.822.3

## ИЗМЕНЕНИЯ ИОННЫХ ТОКОВ НЕЙРОНОВ МОЛЛЮСКОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ СУКЦИКАРДА

**А. И. Вислобоков, Ю. Д. Игнатов, И. Н. Тюренок, В. В. Багметова**

*Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И. П. Павлова,  
Волгоградский государственный медицинский университет*

Сукцикард дозозависимо и обратимо модулировал трансмембранные ионные токи нейронов моллюсков прудовика и катушки. В концентрациях 1—10 мкМ он активировал кальциевые и калиевые токи, 100 мкМ — увеличивал амплитуду кальциевых токов на 5—10 %, 1000 мкМ — подавлял натриевые и калиевые токи на 5—12 %, не влияя на потенциал поверхностного заряда мембраны и воротные механизмы ионных каналов.

**Ключевые слова:** фенотропил, янтарная кислота, сукцикард, мембранотропное действие, нейроны, натриевые, кальциевые, калиевые ионные токи.

## CHANGES OF ION CURRENT IN MOLLUSCS UNDER THE INFLUENCE OF SUCCICARD

**A. I. Vislobokov, Y. D. Ignatov, I. N. Tyurenkov, V. V. Bagmetova**

Succicard modulated the transmembrane ion current of neurons in *Lymnaea stagnalis* and *Planorbarius comeus* mollusks in a dose-dependent and reversible fashion. At concentrations of 1—10 micrometers it activated calcium and potassium currents, at 100 micrometers it increased the amplitude of calcium currents by 5—10 %, at 1000 micrometers it suppressed sodium and potassium currents by 5—12 % without affecting the potential of superficial charge of membrane and portal mechanisms of ion channels.

**Key words:** phenotropil, succinic acid, succicard, membranotropic effect, neurons, sodium, calcium and potassium ion currents.

Структурные аналоги гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) пирacetam, фенибут, фенотропил обладают выраженным нейротропным действием, а их соли и композиции с органическими карбоновыми кислотами превосходят по эффективности исходные вещества [4, 5, 6, 7, 10]. Сукцикард (композиция фенотропила и янтарной кислоты в соотношении 2 : 1) обладает выраженной нейро- и кардиопротекторной активностью, его влияние на ионные токи, через которые могут опосредоваться нейро- и психотропные эффекты, не изучены.

широком диапазоне концентраций на нейронах моллюска, ионные каналы которых имеют принципиальное сходство с нейронами теплокровных животных [6].

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования были неидентифицированные изолированные нейроны моллюсков — прудовика большого (*Lymnaea stagnalis*) и катушки роговой (*Planorbarius comeus*) [2, 3]. Использовали растворы с различным ионным составом (табл.). Перфузирующий (наружный) раствор подавался в камеру, где находился нейрон на полиэтиленовой микропипетке, а диализирующий (внутриклеточный) — внутрь этой пипетки. Исследуемые вещества добавлялись в перфузирующий раствор. Для измерения

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Исследование изменений натриевых, кальциевых и калиевых ионных токов под влиянием сукцикарда в

## Ионный состав растворов для регистрации ионных токов и мембранных потенциалов, в мМ

| Ионные токи                                                  | NaCl | CsCl | CaCl <sub>2</sub> | MgCl <sub>2</sub> | KCl | Tris-OH | pH  |
|--------------------------------------------------------------|------|------|-------------------|-------------------|-----|---------|-----|
| Внеклеточный раствор                                         |      |      |                   |                   |     |         |     |
| Общий входящий ток и регистрация внутриклеточных потенциалов | 100  | —    | 2                 | 1,5               | 5   | 5       | 7,5 |
| Кальциевый входящий ток                                      | —    | 100  | 10                | 1,5               | —   | 5       | 7,5 |
| Калиевый выходящий ток                                       | 100  | —    | 2                 | 1,5               | 5   | 5       | 7,5 |
| Внутриклеточный раствор                                      |      |      |                   |                   |     |         |     |
| Входящие токи                                                | —    | 120  | —                 | —                 | —   | 5       | 7,4 |
| Калиевые выходящие токи                                      | —    | —    | —                 | —                 | 120 | 5       | 7,4 |

трансмембранных ионных токов применялся метод внутриклеточной перфузии изолированных нейронов и фиксации мембранного потенциала [1, 2, 3].

Для исследования использовали субстанцию сукцикарда, которая растворялась в соответствующих наружных растворах в концентрациях 1, 10, 100 и 1000 мкМ. Кривые ионных токов и потенциалов визуально оценивали на экране осциллографа, с помощью преобразователя АЦП — ЦАП вводили в компьютер и распечатывали на принтере. 12-разрядный ЦАП позволял регистрировать малейшие изменения в амплитудах токов. Результаты обрабатывали с использованием статистической программы SPSS-17, при этом для проверки гипотезы о различиях между группами проводили непараметрический дисперсионный анализ Фридмана, а для доказательства различий между контролем и эффектами фармакологических средств в различных концентрациях — апостериорное попарное сравнение с использованием критериев Вилкоксона. Для оценки каждого изменения тока при определенной концентрации использовали 5–10 измерений. На графиках представлены значения средних арифметических и 95 % доверительные интервалы. Для построения графиков использовали пакет программ «Excel».

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сукцикард вызывал незначительные, зависящие от концентрации и обратимые изменения амплитуды натриевого тока (рис. 1).

В концентрациях 1 и 10 мкМ происходило увеличение или наблюдалась тенденция к увеличению тока на 1,5–2 % (рис. 1А), 100 мкМ — проявлялась тенденция подавления тока, а в концентрации 1000 мкМ — подавление тока на 10–12 %. Эффекты наступали быстро, устранялись при отмывании за 2–3 мин, что указывает на невысокую прочность связывания соедине-

ния со структурами мембраны (или ионных каналов). Сукцикард не изменял кинетику развития тока (рис. 1Б) и положение максимума вольт-амперной характеристики мембраны (рис. 1В).

В концентрациях от 1 до 1000 мкМ наблюдалось зависящее от концентрации преимущественно активирующее влияние на кальциевые токи (увеличение амплитуды на 3–10 %) (рис. 2А), оно было выражено в большей степени, чем для натриевых токов. Кинетика развития тока (рис. 2Б) и положение максимума вольт-амперной характеристики мембраны (рис. 2В и 2Г) не изменялись.

Нужно обратить внимание на то, что сукцикард при действии в концентрации 1000 мкМ в большей степени подавлял натриевые токи (рис. 1А), чем кальциевые (рис. 2А). На рис. 1В показано, что на суммарной натрий-кальциевой вольт-амперной характеристике мембраны левая часть кривой, отражающая натриевый ток, подавлена сукцикардом в концентрации 1000 мкМ в большей степени, чем правая часть, связанная с кальциевым током.

Влияние сукцикарда на медленные **калиевые** токи (рис. 3А) было также зависящим от концентрации, обратимым и двухфазным: наблюдалась небольшая активация (повышение амплитуд тока на 1,5–3,6 % при концентрациях 1–10 мкМ) и подавление на 5–13 % при действии в концентрации 1000 мкМ. Восстановление токов в процессе отмывания нейронов происходило так же, как для кальциевых и натриевых токов довольно быстро — за 2–3 мин. Кинетика активации и инактивации тока под влиянием сукцикарда не изменялась (рис. 3Б), положение вольт-амперной характеристики мембраны на оси потенциалов не изменялось, что указывает на отсутствие влияния сукцикарда как на воротные механизмы каналов, так и на потенциал поверхностного заряда мембраны нейронов.

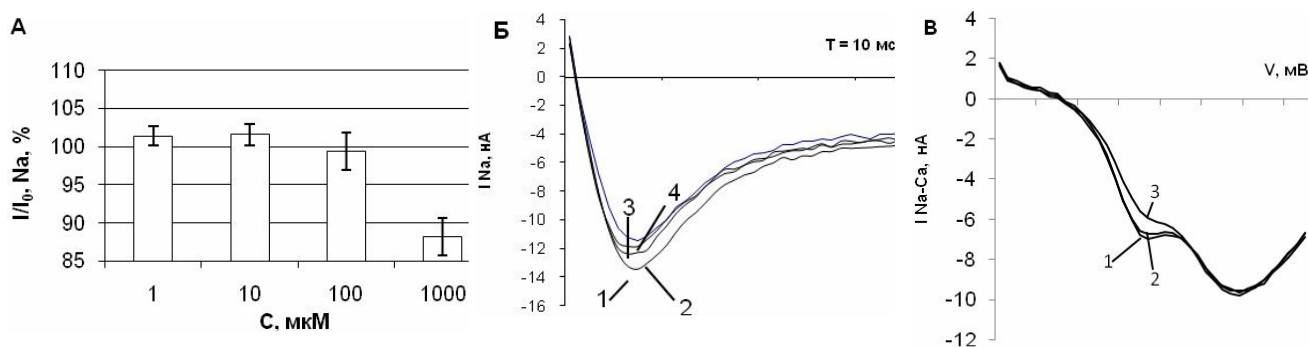
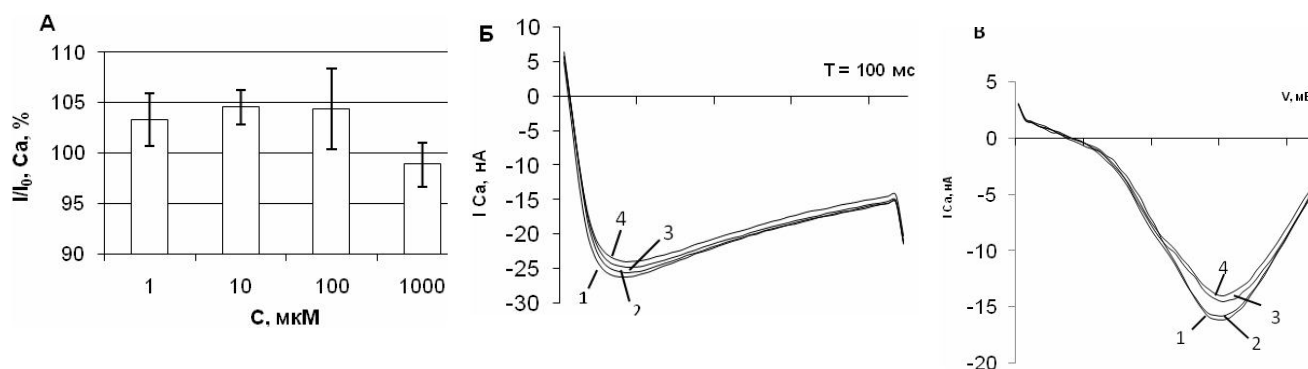
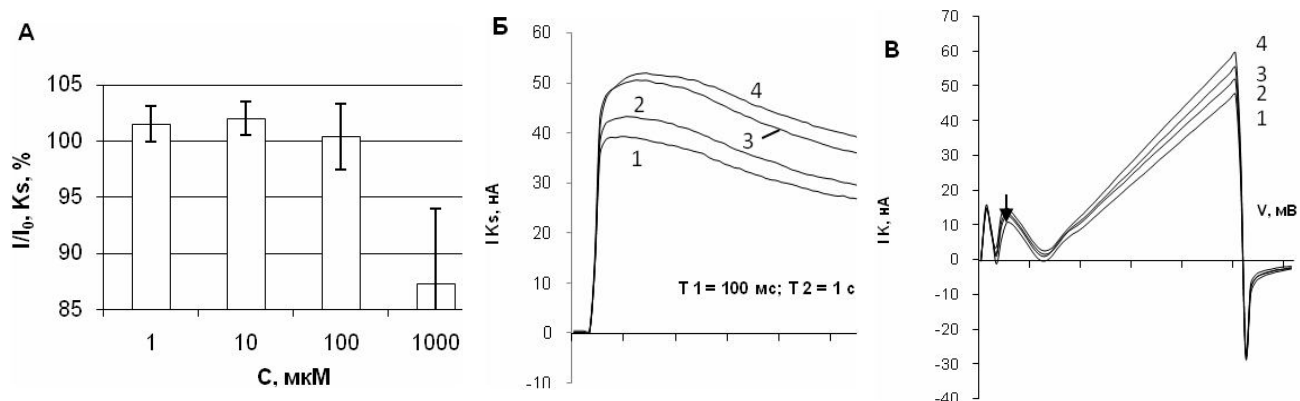


Рис. 1. Изменения натриевого тока нейронов прудовика под влиянием сукцикарда ( $n = 7$ )



**А** — зависимость «концентрация — эффект». **Б** — изменения амплитуды и кинетики тока при действии сукцикарда, кривые снизу вверх: 1 — отмывание, 2 — контроль, 3 — сукцикард 100 мкМ, 4 — 1000 мкМ. **В** — вольт-амперные характеристики при действии сукцикарда, кривые снизу вверх: 1 — контроль, 2 — отмывание, 3 — 100, 4 — 1000 мкМ. По оси абсцисс: **А** — концентрация препарата, **Б** — время, **В** — пилообразное смещение мембранного потенциала от  $-40$  до  $50$  мВ длительностью  $100$  мс; по оси ординат — ионный ток (**А**:  $I$  — при действии вещества,  $I_0$  — до действия, %); **Б** и **В**:  $I_{Ca}$  — кальциевый ток; доверительные интервалы при  $p = 95 \%$ .

Рис. 2. Изменения кальциевого тока нейронов прудовика под влиянием сукцикарда ( $n = 7$ )



**А** — зависимости «концентрация — эффект». **Б** — изменения амплитуды и кинетики медленного тока под влиянием сукцикарда: 1 — 1000 мкМ, 2 — 100 мкМ, 3 — контроль, 4 — 1 мкМ. **В** — вольт-амперные характеристики быстрых и медленных токов при действии сукцикарда; под левой стрелкой — быстрый калиевый ток, кривые сверху вниз: 1 — 10 мкМ, 2 — 100 мкМ, 3 — контроль, 4 — 1000 мкМ; справа — медленный калиевый ток: 1 — 1000 мкМ, 2 — 100 мкМ, 3 — контроль, 4 — 1 мкМ. По оси абсцисс: **А** — концентрация; **Б** — время: слева до стрелки —  $T_1$ , далее —  $T_2$ ; **В** — пилообразное смещение мембранного потенциала от  $-40$  до  $50$  мВ длительностью  $100$  мс; по оси ординат: ионные токи: (**А**:  $I$  — при действии вещества,  $I_0$  — до действия, %); **Б** —  $I_{Ks}$  — медленный калиевый ток, **В** —  $I_K$  — суммарные калиевые токи (быстрый и медленный); доверительные интервалы при  $p = 95 \%$ .

Рис. 3. Изменения калиевых ионных токов нейронов прудовика под влиянием сукцикарда ( $n = 10$ )

Характер влияния сукцикарда на быстрые калиевые токи напоминал их влияние на медленные калиевые. Общий характер подавления выходящих быстрых и медленных калиевых ионных токов для сравнения показан на рис. 3В.

В самом начале на записи после возникновения емкостных токов мембраны (кривые направлены вверх — под стрелкой) следуют небольшие по амплитуде выходящие быстрые калиевые токи, их амплитуда под влиянием сукцикарда изменялась незначительно. Затем следуют линейно нарастающие выходящие медленные калиевые токи (над стрелкой), которые изменялись в большей степени. В самом конце в правой части записи снова видны емкостные токи мембраны, направленные вниз и возникающие

на выключение линейно нарастающего деполяризующего смещения потенциала.

Неспецифические токи утечки мембраны при действии сукцикарда во всем диапазоне исследованных концентраций ( $1$ — $1000$  мкМ) и при регистрации всех ионных токов либо изменялись незначительно (на  $0,5$ — $1$  нА), либо оставались неизменными, поэтому характерных изменений тока утечки мембраны установить не удалось.

Наши результаты о незначительном увеличении амплитуды трансмембранных ионных токов нейронов под влиянием сукцикарда в концентрациях  $1$ — $10$  мкМ можно расценивать как активирующие. При этом активация была выражена преимущественно для кальциевых токов. Этот факт указывает на то, что в клетке под влиянием сукцикарда могут возникать многообразные

модулирующие эффекты — вплоть до активации геномного аппарата, а в синаптических окончаниях — усиленный выброс медиаторов. А поскольку процесс синаптической пластичности связан с повышением концентрации ионов кальция в постсинаптической клетке, который запускает каскад белок-белковых взаимодействий, приводящих в конечном итоге к структурным изменениям в нейроне [2], то полученный нами факт приобретает важное значение для понимания механизмов мембранотропного действия нейромодуляторных ноотропных средств.

Подавление всех ионных токов [9] при действии мембраноактивных веществ примерно в равной степени и в равных концентрациях можно называть неспецифическим (неизбирательным) их влиянием на ионные каналы. Многие соединения подавляют кальциевые, натриевые и калиевые ионные токи, но вместе с тем часто выявляются и индивидуальные черты их действия [2, 3]. Например, анксиолитик афобазол, обладающий и противоаритмическими свойствами, способен блокировать ионные каналы [8]. Из ноотропных средств пирacetам на нейронах моллюска виноградной улитки в концентрации 1—2 мМ подавляет калиевые токи почти на 50 % [10].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сукцикард в концентрациях 1, 10, 100 и 1000 мкМ дозозависимо и обратимо изменяет трансмембранные натриевые, кальциевые и калиевые ионные токи нейронов моллюсков прудовика и катушки, проявляя мембранотропную активность при внеклеточном действии. Сукцикард в концентрациях 1—10 мкМ увеличивает амплитуду кальциевых и калиевых токов на 2—10 %, не изменяя амплитуду натриевых; 100 мкМ — увеличивает амплитуду кальциевых токов на 5—10 %, не оказывая влияния на натриевые и калиевые; 1000 мкМ — подавляет амплитуду натриевых и калиевых токов на 5—12 %, не оказывая влияния на кальциевые. Сукцикард не вызывает сдвигов вольт-амперных характеристик мембраны для всех токов; не влияет на потенциал поверхностного заряда мембраны вблизи ионных каналов и кинетику активации/инактивации ионных то-

ков, что свидетельствует об отсутствии его влияния на воротные механизмы ионных каналов. Быстрая обратимость эффектов после действия сукцикарда в течение 2—3 мин указывает на относительно непрочное связывание его молекул со структурами мембраны и ионных каналов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бородкина Л. Е., Молодавкин Г. М., Тюреньков И. Н. // Эксперим. и клинич. фармакол. — 2009. — № 1. — С. 57—60.
2. Вислобоков А. И., Игнатов Ю. Д., Галенко-Ярошевский П. А., Шабанов П. Д. Мембранотропное действие фармакологических средств. — СПб. — Краснодар: Просвещение-Юг, 2010. — 528 с.
3. Вислобоков А. И., Игнатов Ю. Д., Мельников К. Н. Фармакологическая модуляция ионных каналов мембраны нейронов. — СПб.: Издательство СПбГМУ, 2006. — 288 с.
4. Перфилова В. Н., Тюреньков И. Н., Гречко О. Ю. и др. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2010. — № 1. — С. 74—76.
5. Тюреньков И. Н., Багметов М. Н., Епишина В. В. и др. // Эксперим. и клинич. фармакол. — 2006. — С. 19 — 22.
6. Тюреньков И. Н., Багметов М. Н., Епишина В. В. // Эксперим. и клинич. фармакол. — 2007. — Т. 70, №2. — С. 24—29.
7. Тюреньков И. Н., Багметова В. В., Кривицкая А. Н. и др. // Эксперим. и клинич. фармакол. — 2011. — Т. 74, № 2. — С. 3—7.
8. Цорин И. Б., Палка И. П., Чичканов Г. Г. // Эксперим. и клинич. фармакол. — 2009. — Т. 72, № 1. — С. 41—45.
9. Miller K. W. // Br. J. Anaesth. — 2002. — Vol. 89, № 1. — P. 17—31.
10. Solntseva E. I., Bukanova J. V., Ostrovskaya R. U., et al. // Gen. Pharmacol. — 1997. — Vol. 29 (1) — P. 85—89.

## Контактная информация

**Вислобоков Анатолий Иванович** — д. б. н., заведующий отделом нейрофармакологии института фармакологии им. А. В. Вальдмана, СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, e-mail: vislobokov@yandex.ru