

# НЕЙРОНОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ КОРТЕКСИНА И КОРТАГЕНА

УДК 615.21+612.822.3

© П. Д. Шабанов, А. И. Вислобоков

ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург

## Ключевые слова:

кортексин; кортаген; глицин; *Planorbarius corneus*; нейроны; потенциал покоя; потенциал действия; импульсная активность; ионные токи.

## Резюме

Изучены изменения внутриклеточных потенциалов покоя и действия идентифицированных нейронов периферических ганглиев ЦНС моллюска *Planorbarius corneus*, зарегистрированные с помощью внутриклеточных микроэлектродов и ионных токов изолированных нейронов при фиксации потенциала под влиянием официального препарата кортексина (кортексина 0,5–1000 мкг/мл и глицина от 4–4000 мкМ), пептидов кортексина (0,5–1000 мкг/мл), глицина (0,5 и 5 мМ) и тетрапептида кортагена (0,1–10 000 мкМ). Показано, что препарат кортексина и пептиды кортексина сходным образом модулируют электрическую активность нейронов: незначительно изменяют потенциал покоя, параметры потенциала действия и частоту импульсной активности, что в целом можно интерпретировать как активизирующее действие. Глицин оказывает подобное кортексину, но менее выраженное активизирующее действие на нейроны. Смесь кортексина и глицина (препарат кортексин) не оказывала угнетающего, ухудшающего функциональное состояние нейронов действия, а после их применения всегда наблюдали гиперполяризацию клеток, сокращение длительности потенциалов действия, увеличение их амплитуды и урежение частоты импульсной активности нейронов. Терапевтид кортаген в концентрациях 0,1–100 мкМ также вызывал гиперполяризацию нейронов на 2–3 мВ и урежение их спонтанной импульсной активности, что указывает на его активизирующее (нейропротекторное) действие. В концентрации 1000 мкМ кортаген незначительно (на 2–4 мВ) деполаризовал нейроны, происходило увеличение частоты импульсной активности, а в концентрации 10 мМ сильно и обратимо деполаризовал нейроны, увеличивая частоту и подавляя генерацию потенциалов действия. Активизирующее влияние кортагена на нейроны было более выраженным, чем влияние кортексина. В концентрации 0,1 мкМ кортаген увеличивал амплитуду медленного выходящего тока на 3–5 %. Увеличения амплитуд (активации) входящих натриевых и кальциевых токов под влиянием кортагена не наблюдалось, а дозозависимое и обратимое подавление амплитуд этих токов начиналось при концентрации 100 и более мкМ вплоть до 80–90 % при концентрации 10 мМ.

При этом подавление натриевых токов было более сильным, чем кальциевых. Эффекты действия тетрапептида в столь высоких концентрациях можно считать неспецифическими и даже токсичными.

Кортексин — препарат полипептидной природы, он используется в сочетании с глицином (в качестве стабилизатора) и обладает многосторонней нейропротекторной активностью, оказывая церебропротекторное, ноотропное и противосудорожное действие, снижая токсические эффекты нейротропных веществ, улучшая процессы обучения и памяти, стимулируя репаративные процессы в головном мозге, ускоряя восстановление функций головного мозга после стрессорных воздействий [5]. Его механизм действия связывают с метаболическими эффектами на обмен основных нейромедиаторов и должным поддержанием энергетического статуса нервных клеток [8, 22]. Кортексин регулирует соотношение тормозных и возбуждающих аминокислот, уровень серотонина и дофамина, оказывает ГАМК-ергическое влияние, обладает антиоксидантной активностью и способностью восстанавливать биоэлектрическую активность головного мозга [9]. При фармакотерапии детям с массой тела до 20 кг кортексин вводят ежедневно однократно в дозе 0,5 мг/кг массы тела, с массой тела более 20 кг и взрослым — в дозе 10 мг ежедневно в течение не менее 10 дней. Кортексин представляет собой смесь олигопептидов, аминокислот, метаболитов с общей молекулярной массой порядка 10 кДа. В качестве одного из активных действующих метаболитов кортексина рассматривают тетрапептид кортаген (Ala-Glu-Asp-Pro), который так же, как и кортексин, обладает нейропротекторной активностью [8, 10].

Биоэлектрическая активность нервных клеток является важнейшим средством межнейронных взаимодействий и отражает собою уровень их функционального состояния. Клеточно-молекулярные механизмы нейропротекторного действия пептидов являются предметом пристального изучения биологов, медиков и фармакологов [6, 7, 11]. Известно, что довольно часто мишенью действия фармакологических средств являются ионные каналы мембран клеток [12–21]. Изучение изменений биопотенциалов и ионных токов нейронов под влиянием пептидных препаратов, таких как кортексин и кортаген, способствует пониманию механизмов их нейропротекторной активности. Поскольку в литературе по-

добных данных нет, то целью исследования было изучение изменений внутриклеточных потенциалов покоя, действия, характера импульсной активности и трансмембранных ионных токов нейронов на удобном в методическом плане объекте — центральной нервной системе (ЦНС) моллюска катушки роговой (*Planorbarius corneus*) под влиянием официального препарата кортексина, глицина (входящего в состав официального препарата кортексина), смеси полипептидов кортексина и тетрапептида кортагена в широком диапазоне концентраций, приближающихся к терапевтическим или несколько их превышающим.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Часть работы, связанная с микроэлектродными исследованиями, была выполнена на интактных наиболее крупных идентифицируемых (100–200 мкм) нейронах дорзальной стороны pedalных ганглиев изолированной ЦНС моллюска *Planorbarius corneus*. Нейроны в ганглиях данного моллюска пигментированы и лучше видны под бинокулярной лупой, чем нейроны прудовика или виноградной улитки. Исследовались нейроны, обладающие спонтанной импульсной активностью (ИА), как правило, это так называемые командные нейроны кардиореспираторной системы и нейроны, управляющие движениями ноги моллюска. Из тела вырезали кольцо ганглиев (ЦНС) и помещали в камеру объемом около 0,5 см<sup>3</sup> с физиологическим раствором (в мМ/л): NaCl — 50; KCl — 2; CaCl<sub>2</sub> — 4; MgCl<sub>2</sub> — 1,5; трис-ОН — 10; pH — 7,5. Для регистрации биопотенциалов и суммарных ионных токов нейронов — первой производной (dV/dt) потенциалов действия (ПД) нейронов использовали стеклянные микроэлектроды, заполненные 2,5 М KCl, с сопротивлением 10–20 МОм [1–3].

Субстанции официального препарата кортексина, смеси пептидов кортексина и кортагена (ООО «Герофарм», Санкт-Петербург, Россия) растворяли в физиологическом растворе до концентраций: официальный препарат кортексина — 0,5, 5, 50; 500 мкг/мл (что приблизительно соответствовало 0,05, 0,5, 5 и 50 мкМ в пересчете на молекулярную массу пептидов, входящих в состав препарата) и присутствующего при этом в смеси глицина — 4, 40, 400 мкМ и 4 мМ; полипептидов кортексина — 0,5, 5, 50, 500 мкг/мл (что приблизительно соответствовало 0,05, 0,5, 5 и 50 мкМ в пересчете на молекулярную массу пептидов); глицина — 0,5 и 5 мМ и тетрапептида кортагена — 0,1, 1, 10, 100 мкМ, 1 и 10 мМ. Их использовали сразу после растворения в день проведения экспериментов. При внеклеточном приложении веществ изучали динамику изменений потенциала покоя (ПП), импульсной активности (ИА), параметров потенциалов действия (ПД) и суммарных ионных токов, оцениваемых по первой производ-

ной ПД. Биопотенциалы регистрировали с помощью аналого-цифрового преобразователя фирмы «L-Card» L-791 (Россия).

Вторая часть работы, связанная с измерениями трансмембранных ионных токов при фиксации потенциала, проведена на изолированных неидентифицированных нейронах с диаметром около 100 мкм [1, 3, 4]. Из тела моллюсков вырезали окологлоточное кольцо нервных ганглиев, которое затем для выделения изолированных нейронов обрабатывали 0,25%-м раствором смеси трипсина и проназы-Е в равном количестве в течение 40–50 мин и подвергали механическому разделению. Использовали свежewedенные нейроны (через 60–120 мин после выделения) и на следующий день после их хранения в холодильнике при 4 °С.

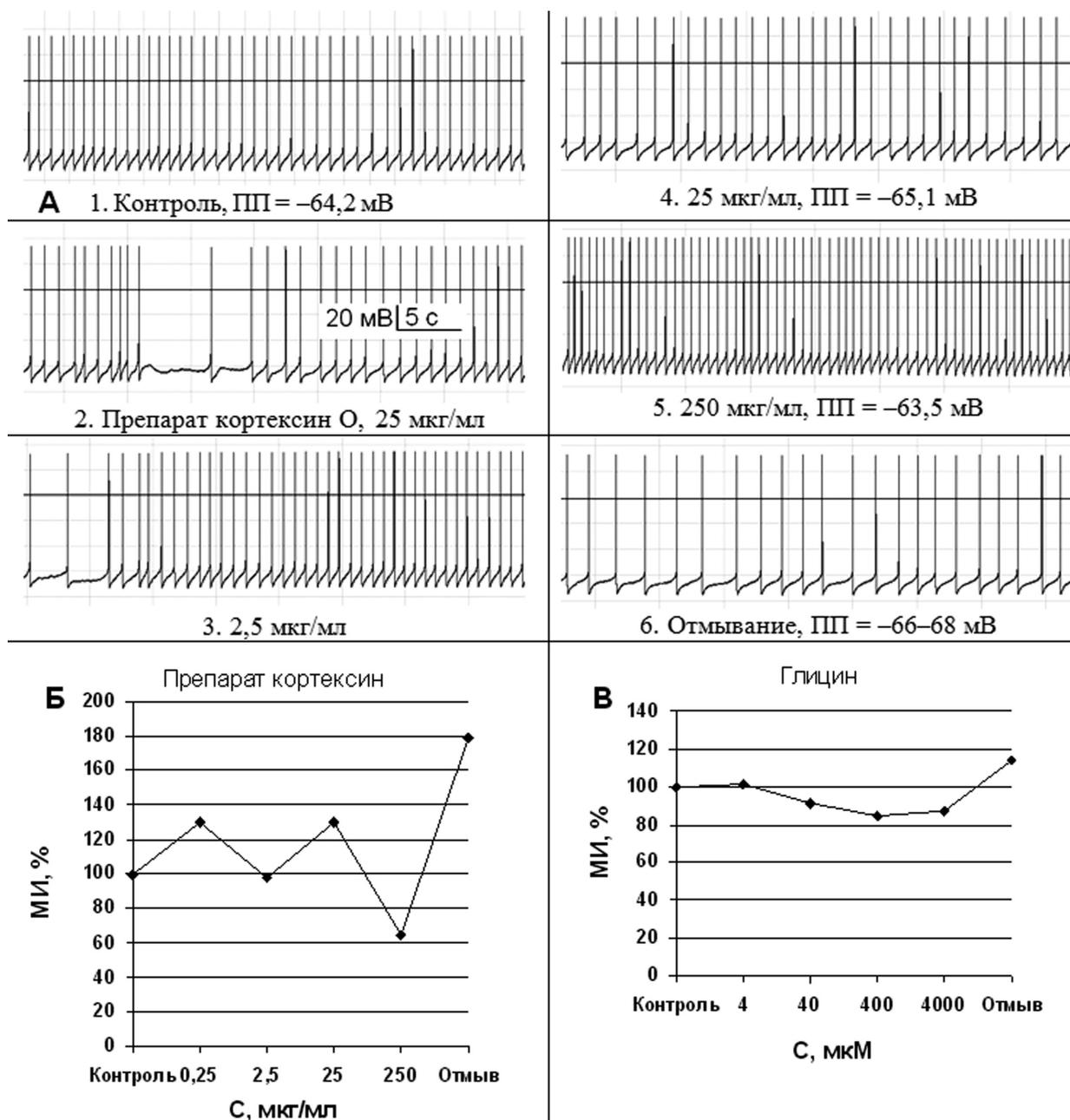
Для измерения трансмембранных ионных токов применяли метод внутриклеточной перфузии изолированных нейронов и фиксации мембранного потенциала [1, 3, 6] с использованием электрофизиологической установки. Исследуемые вещества добавляли в наружный (перфузирующий) раствор.

Поскольку препарат кортексин используется в виде смеси с глицином (в стандартном флаконе 10 мг кортексина и 12 мг глицина), то кроме действия препарата на нейроны было необходимым вычленить индивидуальное влияние полипептидов кортексина и глицина (порознь и в смеси). Кроме того, поскольку важным действующим компонентом полипептидов кортексина предполагается тетрапептид кортаген, то его влияние на нейроны было необходимо сравнить как с действием препарата кортексина (смеси), так и полипептидов кортексина. По этой причине данные об изменениях электрофизиологических свойств нейронов были получены и интерпретируются в четырех аспектах: 1) влияние официального препарата кортексина, 2) эффекты глицина, 3) эффекты полипептидов кортексина и 4) эффекты кортагена.

Для оценки изменений электрофизиологических параметров при определенной концентрации использовали не менее 10 измерений на разных клетках. Полученные результаты обрабатывали с использованием статистической программы SPSS-17. На графиках представлены значения средних арифметических и 95% доверительные интервалы, для их построения использовали пакет программ «Excel».

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все результаты получены на импульсноактивных нейронах с различным характером ИА: регулярной или нерегулярной, одиночной или пачечной. Исходные величины ПП для разных нейронов pedalных ганглиев катушки варьировали (среднее значение  $56,6 \pm 5,4$  мВ;  $n=35$ ), они генерировали ПД с амплитудой от 70 до 90 мВ, что свидетельствует об их хорошем исходном функциональном состоянии.

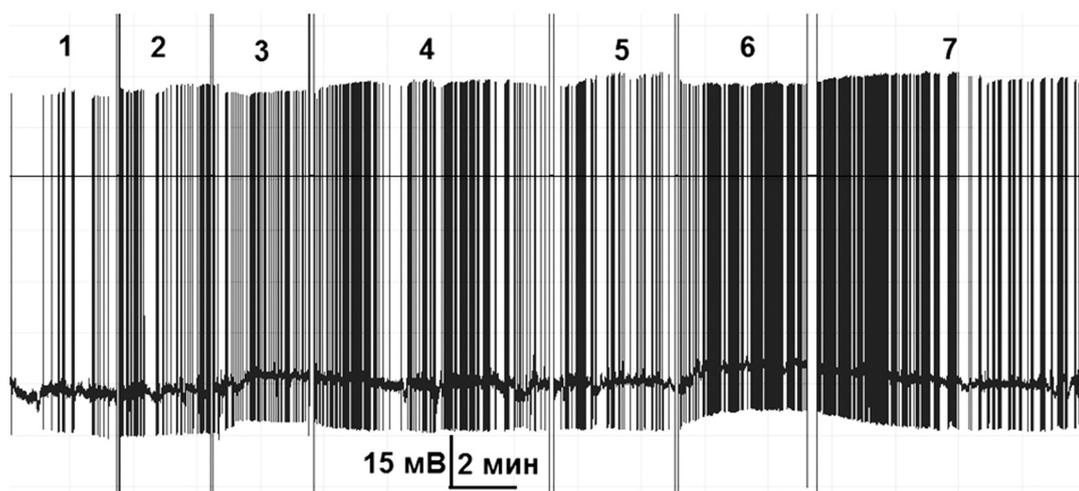


■ Рисунок 1. Изменения внутриклеточных биопотенциалов нейронов катушки под влиянием препарата кортексина и глицина в различных концентрациях. А — динамика изменений ИА ППед1 нейрона под влиянием препарата кортексина; Б — обработка изменений межимпульсных интервалов того же нейрона катушки под влиянием кортексина (Б) и другого нейрона ППед3 под влиянием глицина (В). Калибровка на А — для всех ее фрагментов

Под влиянием препарата кортексина, полипептидов кортексина, глицина и кортагена происходили зависящие от концентрации незначительные гипер- и деполяризационные изменения ПП с соответствующими изменениями ИА, параметров ПД и  $dV/dt$ . Эффекты от всех веществ стабилизировались через 2–3 мин от начала действия, были обратимы и довольно часто с небольшим гиперполяризующим последствием в течение 5–15 мин. На фоне незначительных изменений ПП перестройка ИА нейронов была разнообразной, что зависело от исходной величины их ПП (уровня функционального состояния), характера фоновой ИА

и концентраций действующих веществ. Далее будут представлены наиболее характерные реакции нейронов.

На рис. 1А, 1–6 и 1Б — ответы нейрона правого педального ганглия (ППед1) с регулярной ИА на препарат кортексин в концентрациях от 0,25 до 250 мкг/мл и глицин в концентрациях от 4 мкМ до 4 мМ (В). Небольшая гиперполяризация (примерно на 1 мВ) и урежение ИА под влиянием препарата кортексина в концентрации 0,25 и 25 мкг/мл (рис. 1А, 2 и 4) сменялась столь же небольшой деполяризацией (около 1 мВ) при действии препарата в концентрации 250 мкг/мл с учащением ИА (рис. 1А, 6).



■ Рисунок 2. Динамика изменений импульсной активности нейрона ППед1 под влиянием препарата кортексина и полипептидов кортексина. 1 — контроль, 2 — полипептиды кортексина 100 мкг/мл, 3 — 1000, 4 — отмывание, 5 — препарат кортексин 100 мкг/мл, 6 — 1000, 7 — отмывание. Вертикальные линии на записях — смена растворов

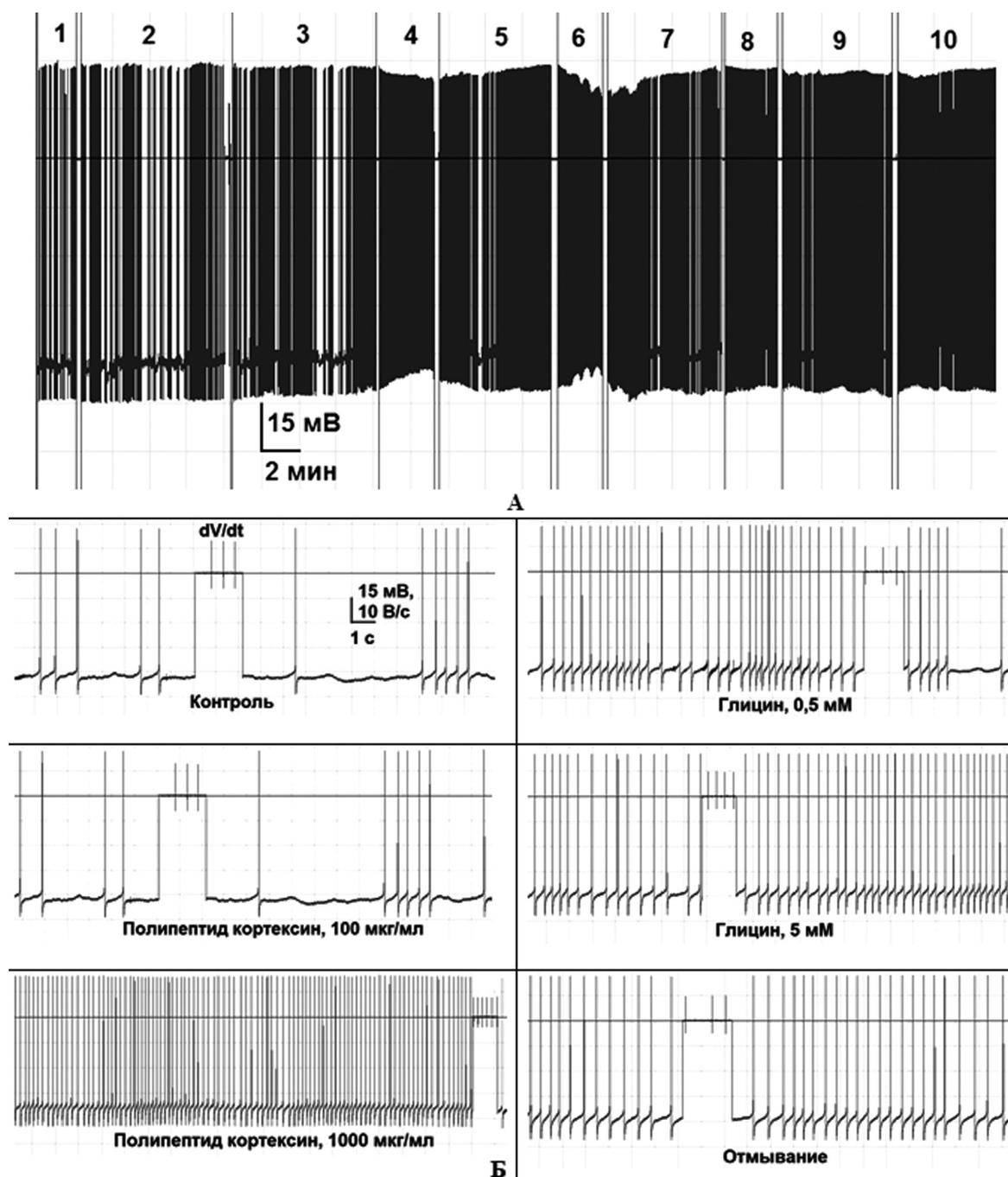
После действия препарата возникала гиперполяризация нейрона на 2–4 мВ со снижением частоты ИА (рис. 1 А, 6). Амплитуда и длительность ПД нейрона изменялась незначительно, при деполяризации амплитуда обычно чуть уменьшается, а длительность ПД возрастает, при гиперполяризации — наоборот, что объясняется потенциалозависимостью ионных каналов, участвующих в генерации ПД. Повторное действие препарата кортексина на этом же нейроне было сходным. Динамика изменений межимпульсных интервалов (МИ) этого нейрона под влиянием препарата кортексина показана на рис. 1 Б, а под влиянием глицина — на рис. 1 В. Можно сделать предположение о том, что глицин в концентрациях, в которых он присутствует в официальном препарате кортексина, оказывает более слабое и противоположное полипептидам кортексина влияние на нейроны, результирующий эффект определяется кортексином. После действия препарата кортексина и глицина происходило сходное увеличение МИ (снижение частоты ИА), но под влиянием глицина оно выражено в меньшей степени. Результаты дальнейших исследований соотношения вклада в эффекты на нейроны препарата кортексина отдельно полипептида кортексина и глицина подтвердило предположение, сделанное на основании первых опытов. На рисунке 2 показана динамика изменений электрической активности нейрона ППед1 под влиянием полипептидов кортексина (фрагменты записей 2 и 3) и его препарата (записи 5 и 6) в концентрациях 100 и 1000 мкг/мл. Видно, что в концентрации 100 мкг/мл препарат кортексин вызывает более значительное урежение ИА (рис. 2, запись 5 в сравнении с фрагментом 3), а в концентрации 1000 мкг/мл на фоне большей деполяризации он вызывает и более выраженное увеличение частоты и снижение амплитуд ПД (рис. 2, 6 по сравнению с 5), что может быть обусловлено вкладом в этот эффект глицина.

В подтверждение сказанного на рис. 3 показаны эффекты препарата кортексина, полипептидов кортексина и глицина на ППед1 нейроне. Видно, что препарат кортексин в концентрации 1000 мкг/мл в большей степени подавляет амплитуду ПД (запись А, 6), чем полипептиды кортексина (запись А, 4). Видно слабое влияние полипептидов в концентрации 100 мкг/мл (запись А, 2 и Б), но выраженное увеличение частоты ПДЖ при концентрации 1000 мкг/мл (А, 4 и Б), а также при действии глицина в концентрациях 0,5 и 5 мМ (А, 8, 9 и Б). Суммарные ионные токи ( $dV/dt$ ) при этом незначительно снижались (записи на Б — развернутые записи фрагментов А). При отмывании частота ПД и  $dV/dt$  постепенно возвращаются к исходным.

Обращает на себя внимание еще и тот факт, что под влиянием глицина в концентрации 5 мМ или сразу после его действия на нейронах ППед1 или ЛПед1 иногда наблюдалась сильная активация их синаптической активности и в особенности — при его повторном действии (рис. 4).

Сходное с полипептидами кортексина влияние на нейроны было и у тетрапептида кортагена, слабая модуляция им ИА в концентрациях от 0,1 до 100 мкМ на фоне незначительной гиперполяризации нейрона ЛПед2 показана на рисунке 5 А, 2–5. При концентрации 1 мМ уже развивалась небольшая деполяризация с учащением ИА и снижением амплитуд ПД (запись А, 6), которая медленно устранялась при отмывании (А, 7). На нейроне № 1 висцерального ганглия была зарегистрирована выраженная гиперполяризация под влиянием кортагена в концентрациях 1–1000 мкМ, но вместе с тем влияние кортагена в высокой концентрации (10 мМ) на нейроны было уже токсичным, развивалась сильная, но обратимая деполяризация нейрона с прекращением ИА (рис. 5 Б).

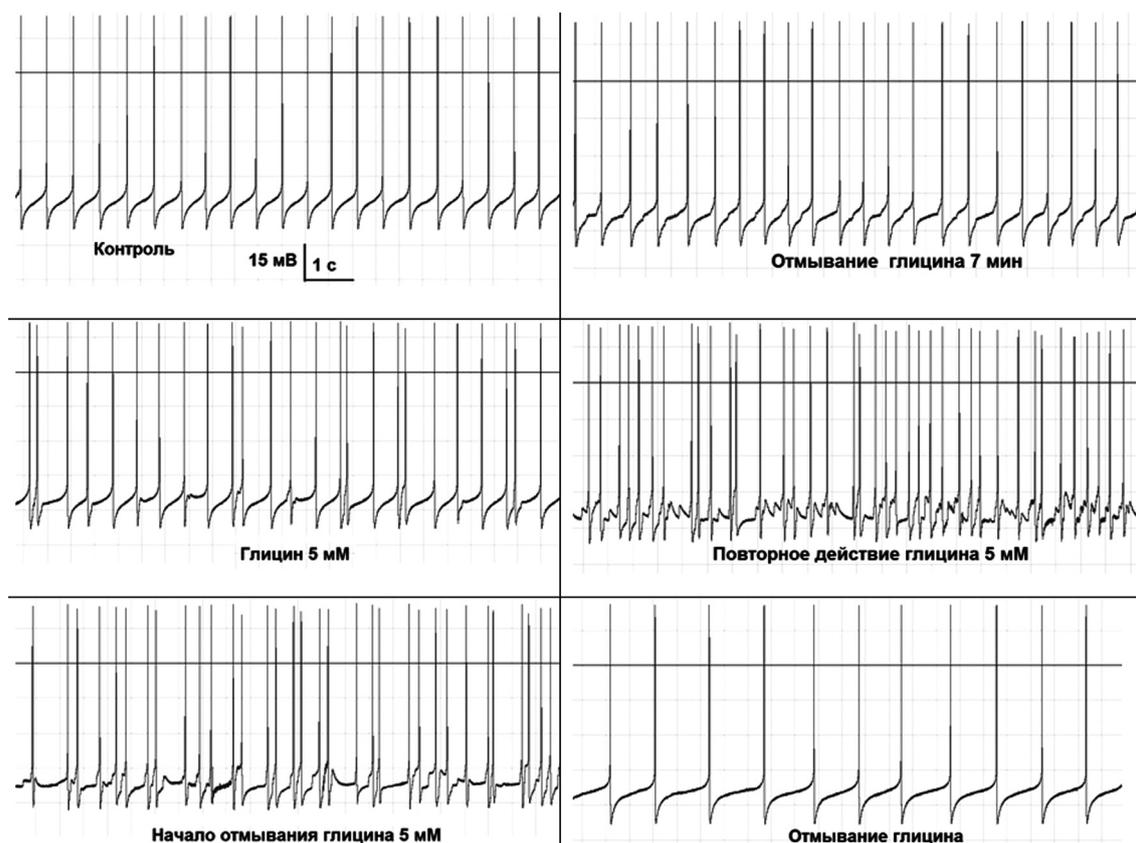
Регистрация трансмембранных ионных токов на изолированных нейронах показала, что под влиянием препарата кортексина, полипептидов кортек-



■ Рисунок 3. Изменения импульсной активности нейрона ПШед1 под влиянием полипептидов кортексина, препарата кортексина и глицина. А — динамика изменений ИА при последовательном действии различных веществ: 1 — контроль, 2 — полипептиды кортексина 1 мкг/мл, 3 — 100, 4 — 1000, 5 — отмывание, 6 — препарат кортексина 1000 мкг/мл, 7 — отмывание, 8 — глицин 0,5 мМ, 9 — 5 мМ, 10 — отмывание. Б — развернутые по времени соответствующие записи фрагментов А

сина и глицина, а также кортагена в концентрациях 0,1–1000 мкМ оказывалось слабое и обратимое действие. Так, например, под влиянием кортагена в концентрации 0,1 мМ амплитуда медленного калиевого тока чуть возрастала (рис. 6 А, 2), с увеличением действующей концентрации — снижалась (записи 3–6) и в концентрации 10 мМ — происходило сильное подавляющее (запись 7), но обратимое действие (запись 8). Подавление амплитуды кальциевых токов под влиянием кортагена было в меньшей степени,

чем калиевых (рис. 6 Б, кривая 3), а натриевых чуть сильнее, судя по суммарным входящим натрий-кальциевым токам, зарегистрированным при пилообразном смещении мембранного фиксированного потенциала (рис. 6 В, левая часть кривой 7). Поскольку в терапевтических концентрациях кортексина (10–20 мг) кортаген в столь высоких концентрациях не присутствует, то опасности токсических эффектов препарата кортексина из-за присутствующего в нем тетрапептида кортагена можно не опасаться.



■ Рисунок 4. Активация синаптической активности IIIed1 нейрона глицином

Таким образом, полученные данные об изменениях ПП (зависимая от концентрации гипер- и деполяризация) и соответствующих изменениях параметров ПД, ИА и ионных токов нейронов ЦНС моллюска при действии или после действия препарата кортексина, полипептидов кортексина, глицина, а также кортагена в концентрациях, приближающихся к терапевтическим, убедительно свидетельствуют об их модулирующем (активирующем) действии на функциональное состояние клеток. Вместе с тем, более высокие концентрации исследованных веществ (кортексин — около 1000 мкг/мл, или 100 мкМ и выше, кортаген и глицин — выше 1 мМ) начинают оказывать неблагоприятное, но обратимое воздействие на нейроны, состоящее в развивающейся деполяризации, сопровождающейся подавлением их ИА и ионных токов.

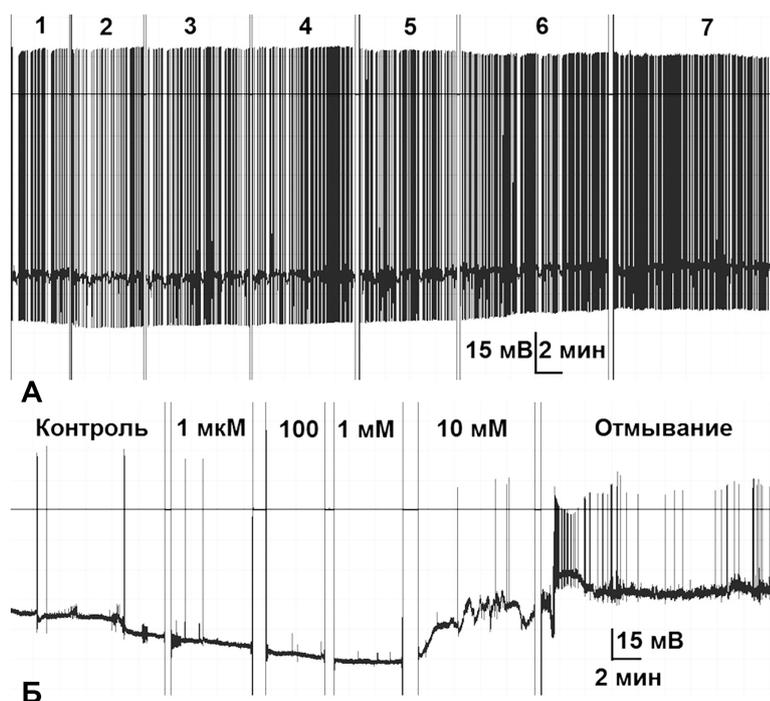
## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализируя полученные результаты об изменениях электрической активности нейронов под влиянием препарата кортексина, полипептидов кортексина, глицина и тетрапептида кортагена, есть основания предположить, что продемонстрированная мембранотропная активность может являться существенной составной частью механизмов их терапевтических эффектов. Модулируя уровень ПП нейронов, они оказывают влияние на параметры ПД и ИА,

на выброс медиаторов в синапсах, на межклеточные взаимоотношения, то есть в целом на функциональное состояние и функциональную активность клеток и, следовательно, органов и систем организма [1–4, 12, 13, 17, 20, 21].

Изменения ПП нейронов могут быть связаны с изменениями пассивной проницаемости клеточных мембран к ионам натрия и калия, а гиперполяризация после действия пептидов — как с восстановлением пассивной проницаемости, так и с активацией работы электрогенного натрий-калиевого насоса [1, 5, 13] из-за увеличения внутриклеточной концентрации ионов натрия при действии пептидов. А изменения ионных токов, параметров ПД и ИА нейронов под влиянием пептидов и глицина, скорее всего, обусловлены соответствующими изменениями ПП и в меньшей степени их можно связать с прямым влиянием на потенциалуправляемые ионные каналы или хемоуправляемые каналы синаптических и пейсмекерных структур [1, 5, 6, 12, 14, 15, 20, 21]. Однако поскольку в методике фиксации потенциала нами показаны изменения ионных токов под влиянием кортагена, в особенности при его действии в концентрации 10 мМ, то нельзя исключать и вклад незначительных изменений токов ионных каналов под влиянием исследованных веществ.

Очень интересный факт усиления синаптической активности нейронов под влиянием глицина в концентрации 5 мМ требует более пристального исследования.



■ Рисунок 5. Изменения внутриклеточных потенциалов нейронов катушки под влиянием тетрапептида кортексина. А — нейрон LPeD2: 1 — контроль, 2 — тетрапептид кортексин 0, 1 мкМ; 3 — 1 мкМ, 4 — 10 мкМ, 5 — 100 мкМ, 6 — 1 мМ, 7 — отмывание; Б — нейрон № 1 висцерального ганглия

## ВЫВОДЫ

Официальный препарат кортексин в концентрациях от 0,25 до 1000 мг/мл (0,05–100 мкМ) модулирует электрическую активность идентифицируемых нейронов моллюска катушки роговой: незначительно изменяет ПП, параметры ПД и частоту импульсной активности, что в целом можно интерпретировать как активирующее действие.

Глицин в концентрациях от 4 мкМ до 5 мМ оказывает менее выраженное действие на нейроны, чем полипептиды кортексина, следовательно, олигопептиды, входящие в состав препарата, оказывают основное действие на нейроны. Наряду с этим глицин в концентрации 5 мМ усиливает синаптическую активность нейронов.

Тетрапептид кортаген, входящий в состав полипептидов кортексина, оказывает сходное с ним действие на нейроны.

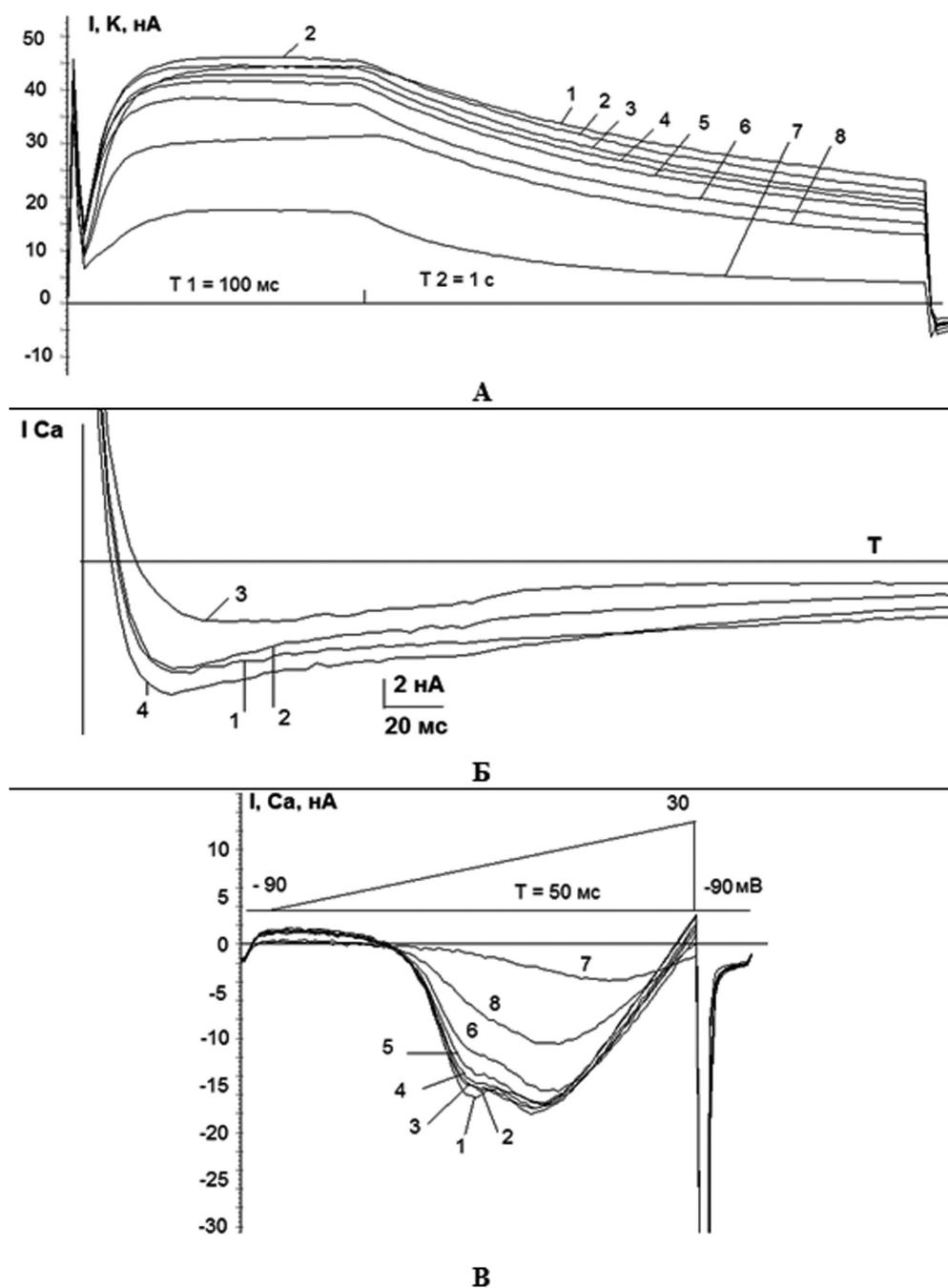
Препарат кортексин и глицин в высоких концентрациях (кортексин — около 1000 мкг/мл, или 100 мкМ и выше, кортаген и глицин — выше 1 мМ) могут оказывать угнетающее, ухудшающее функциональное состояние нейронов. После действия пептидов наблюдается довольно продолжительное активирующее действие на фоне гиперполяризации клеток, сокращения длительности потенциалов действия, увеличения их амплитуды и урежения частоты импульсации нейронов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Вислобоков А. И., Борисова В. А., Прошева В. И., Шабанов П. Д. Фармакология ионных каналов. — Серия:

Цитофармакология. Т. 1 — СПб.: Информ-Навигатор, 2012. — 528 с.

2. Вислобоков А. И., Игнатов Ю. Д., Галенко-Ярошевский П. А., Шабанов П. Д. Мембранотропное действие фармакологических средств. — Санкт-Петербург-Краснодар: Просвещение-Юг, 2010. — 528 с.
3. Вислобоков А. И., Игнатов Ю. Д., Канидьева А. А., Мельников К. Н., Середенин С. Б. Влияние противоаритмических препаратов брадикардии и амиодарона на ионные токи нейронов прудовика // Мед. акад. журн. — 2004. — Т. 4. С. 16–22.
4. Вислобоков А. И., Игнатов Ю. Д., Середенин С. Б. Изменения электрической активности нейронов под влиянием афобазола // Эксперим. и клин. фармакол. — 2012. Т. 75, № 6. — С. 3–7.
5. Дьяконов М. М., Шабанов П. Д. К вопросу о нейропротекторном действии пептидных препаратов // Вестник Рос. воен.-мед. акад. — 2011. — № 1 (33). — С. 255–258.
6. Камкин А. Г., Киселева И. С. Физиология и молекулярная биология мембран клеток: учеб. пособие. — М.: Академия, 2008. — 592 с.
7. Лысенко А. В., Арутюнян А. В., Козина Л. С. Пептидная регуляция адаптации организма к стрессорным воздействиям. — СПб: ВМедА, 2005. — 207 с.
8. Шабанов П. Д. Психофармакологические свойства пептидов с ноотропным типом действия // Мед. акад. журн. — 2009. — Т. 9, № 2. — С. 3–18.
9. Шабанов П. Д. Доказательность нейропротекторных эффектов полипептидных препаратов: нерешенные вопросы // Нервные болезни. — 2011. — Т. 1, № 4. — С. 17–20.
10. Шабанов П. Д. Кортексин и другие пептидные нейропротекторы // Инновации в современной фармакологии. Матер. IV съезда фармакологов России. — Казань; М.: Фолиум, 2012. — С. 197.
11. Шимановский Н. Л., Епинетов М. А., Мельников М. Я. Молекулярная и нанофармакология. — М.: Физматлит, 2010. — 624 с.
12. Ashcroft F. M. Ion channels and disease. — San Diego: Academic Press, 2000. — 481 p.



■ Рисунок 6. Изменения ионных токов нейронов моллюска под влиянием тетрапептида кортагена в различных концентрациях. А — калиевые медленные токи: 1 — контроль, 2 — 0,1 мкМ, 3 — 1 мкМ, 4 — 10 мкМ, 5 — 100 мкМ, 6 — 1 мМ, 7 — 10 мМ, 8 — отмывание; Б — кальциевые токи: 1 — контроль, 2 — 0,1 мкМ, 3 — 1 мкМ, 4 — 10 мкМ, 5 — 100 мкМ, 6 — 1 мМ, 7 — 10 мМ, 8 — отмывание; В — суммарные натрий-кальциевые токи: 1 — контроль, 2 — 0,1 мкМ, 3 — 1 мкМ, 4 — 10 мкМ, 5 — 100 мкМ, 6 — 1 мМ, 7 — 10 мМ, 8 — отмывание

13. Camerino D. C., Tricarico D., Desaphy J. F. Ion channel pharmacology // *Neurotherapeutics*. — 2007. — Vol. 4, N 2. — P. 184–198.
14. Catterall W. A. Structure and regulation of voltage-gated  $Ca^{2+}$  channels // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* — 2000. — Vol. 16. — P. 521–555.
15. Decher N., Pirard B., Bundis F., Peukert S., Baringhaus K. H., Busch A. E., Steinmeyer K., Sanguinetti M. C. Molecular basis for Kv1.5 channel block: conservation of drugs binding sites among voltage-gated K<sup>+</sup> channels // *J. Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 279, N 1. — P. 394–400.
16. Fozzard H. A., Lee P. J., Lipkind G. M. Mechanism of local anesthetic drug action on voltage-gated sodium channels // *Curr. Pharm.* — 2005. — Vol. 11, N 21. — P. 2671–2686.
17. Hübner C. A., Jentsch T. J. Ion channel diseases // *Hum. Mol. Genet.* — 2002. — Vol. 11. — P. 2435–2445.
18. Lipkind G. M., Fozzard H. A. Molecular modeling of local anesthetic drug binding by voltage-gated sodium channels // *Mol. Pharmacol.* — 2005. — Vol. 68, N 6. — P. 1611–1622.
19. Miller K. W. The nature of sites of general anaesthetic action // *Br. J. Anaesth.* — 2002. — Vol. 89, N 1. — P. 17–31.
20. Narahashi T. Neuroreceptors and ion channels as the basis for drug action: past, present, and future // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2000. — Vol. 294, N 1. — P. 1–26.
21. Ragsdale D. S., McPhee J. C., Scheuer T., Catterall W. A. Common molecular determinants of local anesthetic, an-

tiarrhythmic, and anticonvulsant block of voltage-gated Na<sup>+</sup> channels // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. — 1996. — Vol. 93. — P. 9270–9275.

22. *Shabanov P. D.* Neuroprotective effects of cortexin, a drug derived from the brain cortex // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. — 2012. — Т. 10, № 2. — С. M97.

#### NEURONOPROTECTIVE ACTION OF CORTEXIN AND CORTAGEN

*Shabanov P. D., Vislobokov A. I.*

◆ **Summary:** The changes of both intracellular resting potential and action potential of the identified neurons of pedal ganglia of the mollusk *Planorbarius corneus* CNS registered by means of intracellular microelectrodes, and ionic currents of isolated neurons under fixed potential after administration of officinal peptide drug cortexine (cortexine 0.5–1000 µg/ml and glycine 4–4000 µM), cortexine peptides (0.5–1000 µg/ml), glycine (0.5 and 5 µM) and tetrapeptide cortagen (0.1–10000 µM) were studied. Both the drug cortexine and cortexine peptides were shown to modulate the electrical activity of neurons by the same manner: moderately changed the resting potential, the action potential and impulse frequency that was interpreted as activating action. Glycine activated neuronal activity as cortexine but in less degree. The mixture of cortexine and glycine (drug cortexine) did not inhibit and did not disturb the functional state of neurons of action, and the hyper-

polarization was always observed after administration of peptides as well as the shortening of the action potential, increase of their amplitude and reduction of impulse frequency of neurons. Tetrapeptide cortagen in concentrations 0.1–100 µM also hyperpolarized neurons by 2–3 mV and reduced their spontaneous activity that indicated on its activating (neuronoprotective) action. Cortagen in concentration 1000 µM depolarized the neurons moderately (by 2–4 mV), the increase of impulse activity was registered, and in concentration 10 mM it depolarized neurons significantly and reversible, increasing the frequency and inhibiting the generation of the action potential. Cortagen activated neurons in more degree than cortexine. Cortagen in concentration 0.1 µM also increased the amplitude of slow efflux current by 3–5%. We did not observe the increased amplitude (activation) of influx sodium and calcium channels after administration of cortagen. A dose-dependent and reversible inhibition of amplitudes of these currents began after administration of cortagen in concentrations 100 µM and more up to 80–90% inhibition after peptide concentration 10 mM. The inhibition of sodium channels was more intensive than calcium channels. These effects of action of the peptide administered in high concentrations can be qualified as nonspecific and toxic ones.

◆ **Key words:** cortexine; cortagen; glycine; *Planorbarius corneus*; neurons; potential of resting; potential of action; impulse activity; ionic currents.

#### ◆ Информация об авторах

*Шабанов Петр Дмитриевич* — д. м. н., профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С. В. Аничкова. ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН. 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

*Вислобков Анатолий Иванович* — д. б. н., старший научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова. ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН. 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12. E-mail: vislobokov@yandex.ru.

*Shabanov Petr Dmitriyevich* — Dr. Med. Sci. (Pharmacology), Professor and Head, Anichkov Dept. of NeuroPharmacology. Institute of Experimental Medicine, NWB RAMS. 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

*Vislobokov Anatoliy Ivanovich* — Dr. Med. Sci. (Physiology), Senior Researcher, Anichkov Dept. of NeuroPharmacology. Institute of Experimental Medicine, NWB RAMS. 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12. E-mail: pdshabanov@mail.ru.