

# ИЗМЕНЕНИЯ ИОННЫХ ТОКОВ НЕЙРОНОВ ПРИ ВНЕ- И ВНУТРИКЛЕТОЧНОМ ДЕЙСТВИИ АФОБАЗОЛА И БУПИВАКАИНА

УДК 621.311

© А. И. Вислобоков<sup>1</sup>, К. Н. Мельников<sup>1</sup>, П. Д. Шабанов<sup>2</sup><sup>1</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова;<sup>2</sup>ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург

## Ключевые слова:

*Lymnaea stagnalis*; *Planorbarius corneus*; нейрон; афобазол; бупивакаин; ионные токи.

## Резюме

Изучали вне- и внутриклеточное действие анксиолитика афобазола (производного 2-меркаптобензимидазола) в концентрации 1 мМ и местного анестетика бупивакаина в концентрациях 0,5 и 1 мМ на ионные токи изолированных нейронов прудовика (*Lymnaea stagnalis*) и катушки (*Planorbarius corneus*). Использовали метод внутриклеточного диализа. Установлено, что афобазол и бупивакаин при внутриклеточном приложении не оказывают своего специфического действия — подавления ионных токов, характерного при внеклеточном приложении. Сделано предположение, что фармакологические мишени (места взаимодействия) для данных веществ находятся на наружной стороне плазматических мембран нейронов.

## ВВЕДЕНИЕ

Клеточные и молекулярные механизмы действия лекарств многообразны. Важное место для их понимания имеют знания о местах связывания молекул действующих веществ с молекулярными компонентами плазматических и внутриклеточных везикулярных мембран клеток — фармакологическими мишенями, которые могут располагаться как на их наружной, так и внутренней стороне. В литературе сведений об особенностях действия фармакологических средств с наружной или внутренней стороны мембран клеток явно недостаточно. Методы внутриклеточных инъекций веществ в клетки с помощью стеклянных микроэлектродов (под давлением или ионофоретически) имеют ряд недостатков. Более широкие возможности предоставляет метод внутриклеточного диализа и фиксации мембранного потенциала изолированных клеток, когда вещества в строго заданных концентрациях могут быть подведены как к наружной стороне клеточной мембраны, так и внутренней. Вещества могут быть легко «отмыты» и процедура может повторяться неоднократно.

Ранее нами было показано, что 4-аминопиридин при внутриклеточном приложении более эффектив-

но и избирательно подавляет быстрые калиевые токи нейронов моллюсков, чем при внеклеточном [4]. В отдельных экспериментах мы демонстрировали, что этимизол [1] и афобазол [6] при внутриклеточном приложении не оказывают своих характерных эффектов, зарегистрированных при внеклеточном приложении. Нами подробно было исследовано внеклеточное действие местных анестетиков [1, 7, 9, 11], а внутриклеточное их действие не изучалось.

Анксиолитик афобазол (5-этокси-2- [морфолиноэтилтио]-бензимидазола дигидрохлорид) при внеклеточном приложении проявляет также нейро- и кардиопротективную активность [5]. Механизмы клеточно-молекулярных эффектов афобазола можно связывать с его высоким сродством к сигма- [14, 17] и/или мелатониновым МТ1 и МТ3-рецепторам, способностью препарата подавлять активность MAO-A [5], модулировать биопотенциалы [3] и ионные токи нейронов [1, 10]. В связи с тем, что в концентрациях 1–10 мМ подавляющее влияние афобазола на ионные токи напоминает влияние тетраэтиламмония (ТЭА) и анестетиков на калиевые токи, то представляется целесообразным получение дополнительных сведений об особенностях действия как афобазола, так и ТЭА и местных анестетиков при вне- и внутриклеточном приложении.

Целью данного исследования было изучение влияния афобазола и бупивакаина в различных концентрациях на ионные токи изолированных нейронов ЦНС моллюска прудовика и катушки при вне- и внутриклеточном приложении.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования явились изолированные нейроны с диаметром 60–100 мкМ моллюсков — прудовика большого (*Lymnaea stagnalis*) и катушки роговой (*Planorbarius corneus*). Из тела моллюсков вырезали околослоточное кольцо нервных ганглиев, которое затем для выделения изолированных нейронов обрабатывали в течение 40–50 минут 0,25%-м раствором смеси трипсина и проназы-Е в равном количестве и подвергали механическому разделению. Использовали свежевыделенные нейроны (через 60–120 мин после вы-

деления) и на следующий день после их хранения в холодильнике при 4 °С.

Исследуемые вещества добавляли в перфузирующий (внеклеточный) и/или диализирующий (внутриклеточный) растворы. Для измерения трансмембранных ионных токов применяли метод внутриклеточной перфузии изолированных нейронов и фиксации мембранного потенциала [1, 8, 11] с использованием электрофизиологической установки. 12-разрядный АЦП-ЦАП с временем квантования 40 мкс и усилители с полосой пропускания от 0 до 10 кГц обеспечивали адекватность регистрации токов.

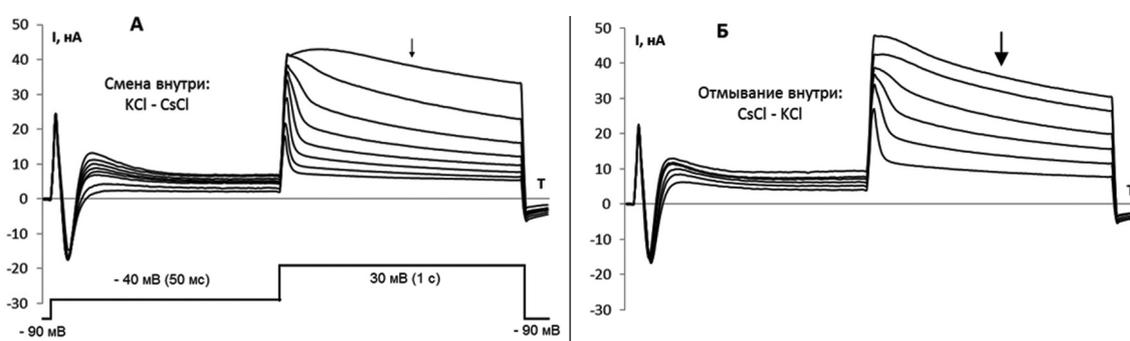
Для изготовления микропипетки с порой использовали тонкую полиэтиленовую трубку длиной 3 см, сгибали ее V-образно в струе горячего воздуха и на сгибе тонкой стальной проволокой движением изнутри формировали выступ. Затем на вершине выступа под бинокулярной лупой горячей иглой делали отверстие в 4–6 мкм и соединяли пипетку с системой растворов, а по величине сопротивления (порядка 200–400 кОм) оценивали пригодность микропипетки для дальнейшей работы. Изолированная клетка помещалась на полиэтиленовую пипетку (в большинстве случаев при фиксированном потенциале –90 мВ). При гиперполяризующем сдвиге мембранного потенциала на экране осциллографа были видны емкостные токи мембраны и неспецифический ток утечки, который электронным способом «вычитали» из общего тока. При переключении тестирующего импульса на деполяризацию регистрировали входящие (натрий-кальциевые) и выходящие (быстрый и медленный) калиевые токи. Программа стимуляции нейронов была одинаковой во всех экспериментах, она позволяла регистрировать входящие (натрий-кальциевые и быстрые калиевые токи — при сдвиге потенциала в течение 50 мс от –90 до –40 мВ) и выходящие медленные (при

сдвиге потенциала в течение от 1 с до 30 мВ) токи (рис. 1, А, в нижней части).

Для исследования использовали субстанцию афобазола, ТЭА и бупивакаин (marcaine, 0,5%-й раствор, ASTRA, Швеция). Кривые ионных токов визуально контролировали на экране осциллографа, с помощью преобразователя АЦП–ЦАП вводили в компьютер. Для их построения и наложения на один кадр использовали пакет программ «Excel».

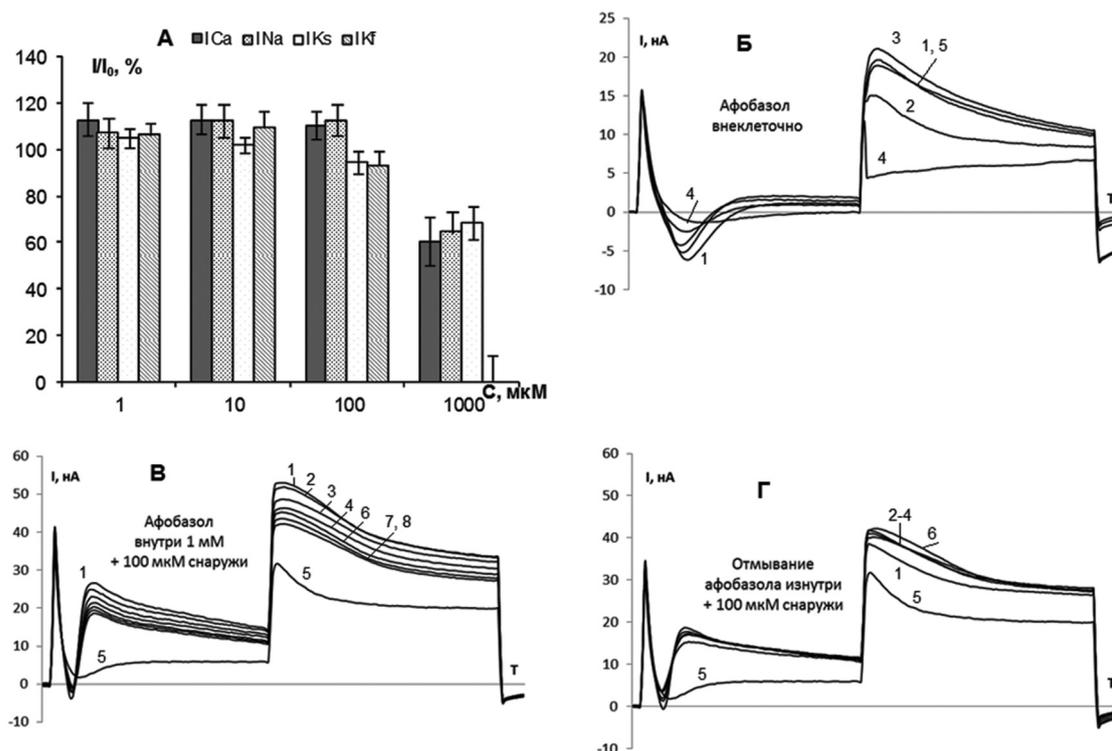
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При добавлении фармакологических средств во внеклеточные физиологические растворы их эффекты в нейронах развиваются и стабилизируются на определенном уровне быстро, примерно в течение 1 минуты. Другое дело, когда вещества добавляются к внутриклеточному диализирующему раствору, выравнивание концентраций замещающих растворов через небольшое отверстие в пипетке (порядка 5 мкм), происходит в течение нескольких минут. Для контроля процесса замещения внутриклеточного раствора были проведены эксперименты с заменой исходного внутриклеточного раствора KCl на раствор CsCl. Показателем осуществления такой смены является снижение выходящих калиевых токов, поскольку ионы цезия не проникают по калиевым каналам. На рис. 1, А представлен типичный пример подобной динамики изменения амплитуд калиевых токов во времени при замене внутриклеточного калиевого раствора на цезиевый. Видно, что через каждую минуту в течение 7 мин амплитуда входящих токов (в левой части) практически не изменялась, а быстрых калиевых, развивающихся в течение 20–30 мс вслед за входящими, прогрессивно снижается. Далее (в правой части кривых в течение 1 с) существенно снижаются медленные калиевые токи. При последующей замене цезиевого раствора на калиевый (при отмывании) постепенно появляются



■ Рисунок 1. Усреднённые вызванные потенциалы соматосенсорной коры на фоне действия вещества  $\pi Q1983$  (100 мг/кг, внутрь) при развитии острой гипоксии

А. В верхней части — замена 120 мМ KCl на 120 мМ CsCl и уменьшение ионных токов, кривые сверху-вниз под стрелкой: 1 — контроль, 2 — 1 мин смены раствора, 3 — 2, 4 — 3, 5 — 4, 6 — 5, 7 — 6 и 8 — 7 мин; в нижней части — программа стимуляции (сдвига потенциала) нейронов, одинаковая во всех экспериментах. Б — обратная смена CsCl на KCl и восстановление ионных токов, кривые снизу-вверх под стрелкой: 1 — 1 мин замены, 2 — 2, 3 — 3, 4 — 4, 5 — 5, 6 — 6 мин. На всех рисунках: по оси абсцисс — время; по оси ординат — ионные токи (пик емкостного, входящие натрий-кальциевые, быстрый выходящий калиевый и медленный калиевый)



■ Рисунок 2. Вне- и внутриклеточное действие афобазола на нейроны

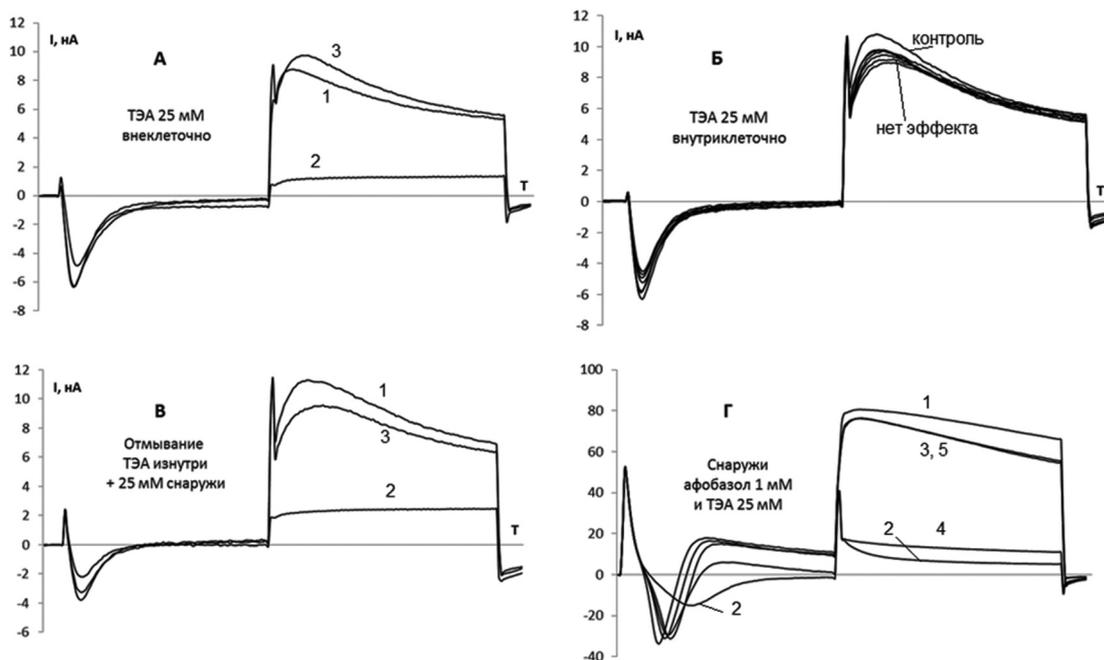
**А** — зависимости «концентрация–эффект» для натриевых, кальциевых, быстрых и медленных калиевых токов нейронов моллюсков при внеклеточном действии афобазола (по оси абсцисс — концентрация, по оси ординат — отношение амплитуд токов при действии (I) афобазола к токам в контроле (I<sub>0</sub>), %; доверительные интервалы при  $p=95\%$ ). **Б** — внеклеточное действие афобазола: 1 — контроль, 2 — 100 мкМ, 3 — отмывание, 4 — 1 мМ, 5 — отмывание. **В** — внутриклеточное действие в концентрации 1 мМ: 1 — контроль, 2 — через 1 мин, 3 — 2, 4 — 3 мин, 5 — на фоне внутриклеточного действия и внеклеточное действие афобазола в концентрации 1 мМ, 6 — отмывание афобазола снаружи, 7 — 6 мин внутриклеточного действия, 8 — 7 мин. **Г** — отмывание внутриклеточного действия: 1 — 1 мин, 2–4 — 2, 3 и 4 мин отмывания, 5 — внеклеточное действие афобазола 1 мМ, 6 — отмывание афобазола

ся быстрые и медленные калиевые токи (рис. 1, Б), а входящие — также без изменений. Таким образом, если происходят существенные изменения ионных токов при внутриклеточном действии веществ в условиях диализа нейронов, то они могут проявляться уже через 2–3 мин.

Ранее нами было показано, что афобазол при внеклеточном приложении оказывает активирующе-подавляющее действие на ионные каналы нейронов моллюсков [1, 10]. В концентрациях 1–10 мкМ токи возрастают, хотя эффекты незначительные, а в концентрациях 100–1000 мкМ — снижаются и они сильно выражены (рис. 2, А). Внеклеточное действие афобазола в концентрациях 100 мкМ и 1 мМ нами далее использовалось как тестовое (для контроля) — рисунок 2, Б, а внутриклеточное приложение в концентрации 1 мМ, а иногда и 10 мМ, — как исследуемое (рис. 2, В). Видно, что внутриклеточное приложение афобазола в концентрации 1 мМ в течение 7 мин не вызывает существенного подавления входящих, быстрого и медленного калиевых токов. Внеклеточное же приложение афобазола в концентрации 100 мкМ на фоне его внутриклеточного неэффективного действия существенно снижает токи, это снижение устраняется при отмывании афобазо-

ла во внеклеточной среде (рис. 2, В). Последующее отмывание афобазола изнутри клетки лишь незначительно приводит к восстановлению медленного калиевого тока. Отсутствие восстановления токов после внутриклеточного действия афобазола можно считать его неспецифическим, ухудшающим состояние нейронов, действием. Повторное внеклеточное приложение афобазола в концентрации 100 мкМ опять существенно и обратимо снижает ионные токи (рис. 2, Г). Все эффекты афобазола повторяются (воспроизводятся) многократно на одном и том же и на различных нейронах.

ТЭА в концентрации 25 мМ при внеклеточном приложении сильно и обратимо подавляет медленные калиевые токи и незначительно — входящие натрий-кальциевые (рис. 3, А, 2). При внутриклеточном приложении ТЭА в той же концентрации оказывает очень слабое и трудно обратимое подавление (рис. 3, Б). Повторное внеклеточное действие ТЭА в процессе отмывания его внутриклеточного действия оказывается столь же эффективным (рис. 3, В). Внеклеточное действие ТЭА в концентрации 25 мМ и афобазола в концентрации 1 мМ было примерно равноэффективным и обратимым в подавлении медленного калиевого тока, но подавление



■ Рисунок 3. Вне- и внутриклеточное действие ТЭА в концентрации 25 мМ на нейроны

*А* — внеклеточное действие: 1 — контроль, 2 — ТЭА, 3 — отмывание. *Б* — отсутствие эффектов ТЭА при внутриклеточном действии в течение 1, 2, 3, 4, 5 мин (кривые почти сливаются). *В* — отмывание ТЭА из нейрона: 1 — контроль, 2 — внеклеточный эффект на фоне отмывания изнутри клетки, 3 — отмывание ТЭА снаружи. *Г* — сравнение внеклеточных эффектов афобазола (1 мМ) и ТЭА (25 мМ): 1 — контроль, 2 — афобазол, 3 — отмывание, 4 — ТЭА, 5 — отмывание

входящих и быстрых калиевых токов афобазолом было более сильным, чем ТЭА (рис. 3, Г, 2).

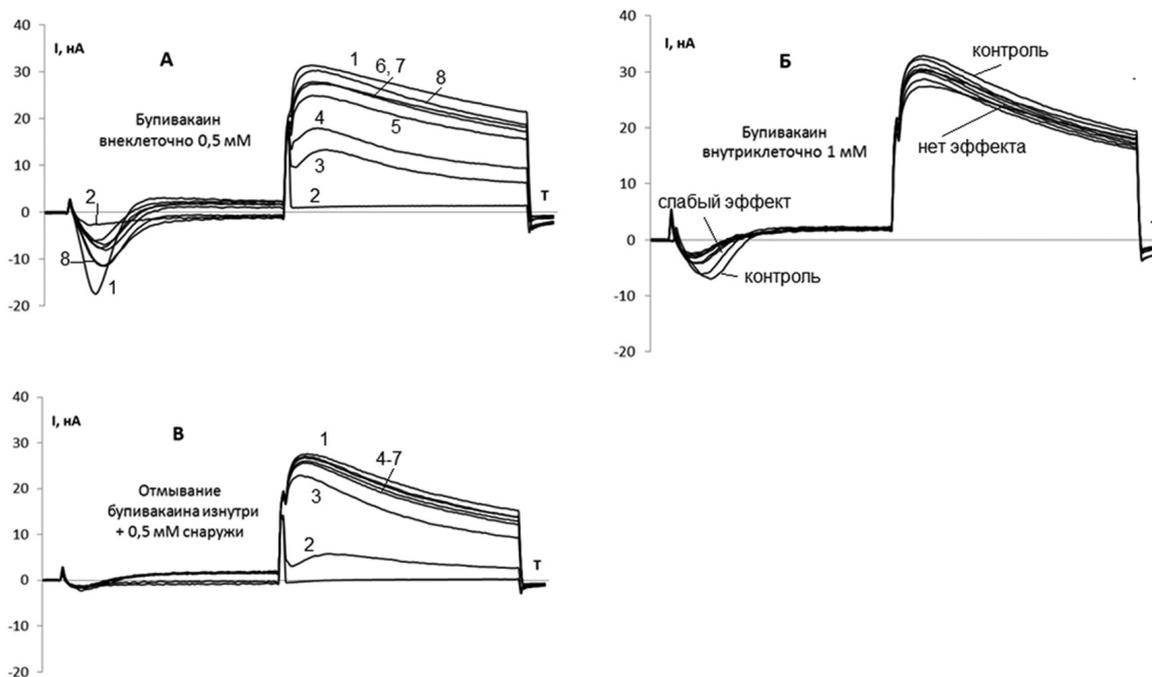
Бупивакаин в концентрации 0,5 мМ при внеклеточном приложении практически полностью и медленно обратимо подавляет входящие и выходящие токи (рис. 4, А). Внутриклеточное его действие в концентрации 1 мМ не оказывает подобного действия, входящие токи необратимо снижались примерно на половину, а выходящие медленные калиевые — менее, чем на 10% (рис. 4, Б). При отмывании бупивакаина из клетки ионные токи не восстанавливались до контрольных значений, происходило неспецифическое необратимое их снижение. Но внеклеточное приложение бупивакаина вновь оказывалось эффективным и обратимым (рис. 4, Б, 2).

Таким образом, результаты проведенных экспериментов показали, что вне- и внутриклеточное действие афобазола и бупивакаина существенно отличаются: характерное для них внеклеточное подавляющее действие на ионные токи не воспроизводится при их внутриклеточном приложении.

Необходимо отметить, что отсутствие внутриклеточного действия на нейроны афобазола и бупивакаина демонстрируется впервые. Полученные результаты убедительно доказывают, что на внутренней стороне плазматической мембраны или на мембранах внутриклеточных структур нет мест связывания молекул этих соединений (фармако-

логических мишеней), взаимодействие с которыми прямо или опосредованно приводило бы к снижению ионных проводимостей потенциалуправляемых натриевых, кальциевых и калиевых ионных каналов.

Следует подчеркнуть, что внеклеточное подавление ионных токов афобазолом, показанное нами и ранее [1, 3, 6, 10], внешне сходно с действием других токоподавляющих средств: местных анестетиков, противоаритмических средств и т.п. [1, 2, 7, 9, 11–13], снижающих количество функционирующих каналов вследствие связывания молекул лекарственных средств со структурными образованиями ионных каналов [16, 18–26]. Молекулярные механизмы подавления токов ионных каналов могут быть различными. Известно, что снижение амплитуд ионных токов клеток может быть обусловлено уменьшением частоты открывания ионных каналов и/или уменьшением времени, в течение которого одиночные ионные каналы находятся в открытом состоянии. Не исключено, что афобазол оказывает подобное действие, поскольку нами ранее было показано изменение кинетики трансмембранных ионных токов под его влиянием [6, 10]. Для местных анестетиков предполагается прямое связывание их молекул в устьях ионных каналов [12, 15, 18, 21, 22–24, 26], не исключается и влияние на них через насыщение веществами



■ Рисунок 4. Вне- и внутриклеточное действие бупивакаина на нейроны

*А* — изменения ионных токов при внеклеточном действии (0,5 мМ): 1 — контроль, 2 — 0,5 мМ, 3 — 1 мин отмывания, 4 — 3 мин, 5 — 4 мин, 6 и 7 — 5 и 6 мин, 8 — 7 мин. *Б* — внутриклеточное действие (1 мМ): видна неэффективность действия бупивакаина при внутриклеточном действии (в сравнении с контролем и эффектом при внеклеточном приложении). *В* — отмывание из нейрона: 1 — 9 мин действия бупивакаина изнутри и начало его отмывания (контроль), 2 — внеклеточное действие бупивакаина (0,5 мМ) на фоне 2 мин отмывания изнутри, 3 — 5 мин отмывания снаружи, 4–7 — дальнейшее отмывание в течение 8–10 мин

липидной фазы мембран [11, 13, 16, 23]. Вместе с тем следует подчеркнуть, что истинные молекулярные механизмы, лежащие в основе выше перечисленных электрофизиологических эффектов афобазола и бупивакаина, требуют дальнейшего изучения.

## ВЫВОДЫ

Афобазол в концентрации 1 мМ при внеклеточном приложении обладает выраженным действием на электрическую активность нейронов, которое проявляется почти в полном и обратимом уменьшении амплитуд ионных токов. Внутриклеточное действие афобазола не вызывает подобных эффектов.

Бупивакаин в концентрации 0,5 мМ при внеклеточном приложении практически полностью и медленно обратимо подавляет ионные токи, а внутриклеточное его действие в концентрации 1 мМ неэффективно.

ТЭА в концентрации 25 мМ при внеклеточном приложении практически полностью подавляет входящие калиевые медленные токи, существенно не подавляя входящие натрий-калиевые токи, а при внутриклеточном приложении он не оказывает своего характерного подавления калиевых токов.

Внутриклеточное действие афобазола, бупивакаина и ТЭА в течение 5–7 мин оказывает незначительное неспецифическое подавляющее (около

10%) и необратимое действие на амплитуду ионных токов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Вислобоков А. И., Игнатов Ю. Д., Галенко-Ярошевский П. А., Шабанов П. Д. Мембранотропное действие фармакологических средств. — СПб.; Краснодар: Просвещение-Юг, 2010. — 528 с.
2. Вислобоков А. И., Игнатов Ю. Д., Кандьева А. А., Мельников К. Н., Середенин С. Б. Влияние противоритмических препаратов брадизола и амиодарона на ионные токи нейронов прудовика // Мед. акад. журн. — 2004. — Т. 4. — С. 16–22.
3. 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.
4. Вислобоков А. И., Крылов Б. В., Акоев Г. Н. Преимущественное блокирование 4-аминопиридином каналов быстрого калиевого тока нейронов моллюска // Физиол. журн. СССР. — 1983. — Т. 69, № 11. — С. 1420–1426.
5. Воронина Т. А., Середенин С. Б. Ноотропные и нейропротективные средства // Эксперим. и клин. фармакол. — 2007. — Т. 70, № 4. — С. 44–58.
6. Игнатов Ю. Д., Вислобоков А. И. Изменения ионных токов нейронов под влиянием афобазола, атаракса, амиодарона и брадизола // Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам: матер. 5-й междунар. конф. // Эксперим. и клин. фармакол. — 2010. — Т. 73, № 5, прил. — С. 46–47.
7. Каде М. А., Игнатов Ю. Д., Вислобоков А. И., Галенко-Ярошевский П. А., Борисова В. А., Мельников К. Н. Взаимная модуляция действия на ионные каналы нейронов моллюсков мексидола и бупивакаина при их

- совместном применении // Кубанский науч. мед. вестник. — 2009. — № 7. — С. 72–75.
8. Костюк П. Г., Крышталь О. А. Механизмы электрической возбудимости нервной клетки. — М.: Наука, 1981. — 208 с.
  9. Мельников К. Н., Вислобоков А. И. Влияние бупивакаина и лидокаина на ионные каналы изолированных нейронов моллюска // Психофармакол. и биол. наркол. — 2004. — Т. 4, № 2–3. — С. 638–644.
  10. Середенин С. Б., Игнатов Ю. Д., Вислобоков А. И., Мельников К. Н., Яркова М. А. Влияние афобазола на трансмембранные ионные токи нейронов моллюска // Эксперим. и клин. фармакол. — 2005. — Т. 68, № 5. — С. 3–6.
  11. Фармакология ионных каналов / А. И. Вислобоков, В. А. Борисова, В. И. Прошева, П. Д. Шабанов. — Серия: Цитофармакология. Т. 1 — СПб.: Информ-Навигатор, 2012. — 528 с.
  12. Ahern Ch. A., Eastwood A. L., Dougherty D. A., Horn R. Electrostatic contributions of aromatic residues in the local anesthetic receptor of voltage-gated sodium channels // Circulation Res. — 2008. — Vol. 102. — P. 86–94.
  13. Ashcroft F. M. Ion channels and disease. — Academic Press, San Diego. — 2000. — 481 p.
  14. Behensky A. A., Yasny I. E., Shuster A. M. et al. Stimulation of sigma receptors with afobazole blocks activation of microglia and reduces toxicity caused by amyloid- $\beta$ 25–35 // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2013. — Vol. 347, N2. — P. 458–467.
  15. Bowden S., Yeung S. Y., Robertson B. Pharmacology of voltage-gated K<sup>+</sup> channels // Toxics Rev. — 2003. — Vol. 22. — P. 1–12.
  16. Camerino D. C., Tricarico D., Desaphy J. F. Ion channel pharmacology // Neurotherapeutics. — 2007. — Vol. 4, N 2. — P. 184–198.
  17. Cuevas J., Rodriguez A., Behensky A., Katnik C. Afobazole modulates microglial function via activation of both  $\sigma$ -1 and  $\sigma$ -2 receptors // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2011. — Vol. 339, N 1. — P. 161–172.
  18. Decher N., Pirard B., Bundis F. et al. 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.
  19. 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.
  20. Hübner C. A., Jentsch T. J. Ion channel diseases // Hum. Mol. Genet. — 2002. — Vol. 11. — P. 2435–2445.
  21. Kondratiev A., Tomaselli G. F. Altered gating and local anesthetic block mediated by residues in the I-S6 and II-S6 transmembrane segments of voltage-dependent Na<sup>+</sup> channels // Mol. Pharmacol. — 2003. — Vol. 64, N 3. — P. 741–752.
  22. Lipkind G. M., Fozzard H. A. Molecular modeling of local anesthetic drug binding by voltage-gated sodium channels // Mol. Pharmacol. — 2005. — Vol. 68 (6). — P. 1611–1622.
  23. Miller K. W. The nature of sites of general anaesthetic action // Brit. J. Anaesth. — 2002. — Vol. 89, N1. — P. 17–31.
  24. Muroi Y., Chanda B. Local anesthetics disrupt energetic coupling between the voltage-sensing segments of a sodium channel // J. Gen. Physiol. — 2008. — Vol. 133, N 1. — P. 1–15.
  25. 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.
  26. Ragsdale D. S., McPhee J. C., Scheuer T., Catterall W. A. Common molecular determinants of local anesthetic, antiarrhythmic, and anticonvulsant block of voltage-gated Na<sup>+</sup> channels // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1996. — Vol. 93. — P. 9270–9275.

### CHANGES IN NEURONAL IONIC CURRENTS AFTER EXTRACELLULAR AND INTRACELLULAR ADMINISTRATION OF AFOBAZOL AND BUPIVACAINE

A. I. Vislobokov, K. N. Melnikov, P. D. Shabanov

◆ **Summary:** The action of anxiolytic afobazol (2-mercaptobenzimidazolium derivative) in concentration 1 mM and local anesthetic bupivacaine in concentrations 0,5–1 mM on ionic currents of isolated neurons of *Lymnaea stagnalis* and *Planorbarius corneus* was studied. The method of intracellular dialysis was used in the experiment. Afobazol and bupivacaine after intracellular administration was shown not to possess their inhibition effect of ionic currents, typical for extracellular administration of drugs. It is suggested that pharmacological targets or binding sites for these drugs are located on external surface of neuronal membrane.

◆ **Key words:** *Lymnaea stagnalis*, *Planorbarius corneus*, нейрон, афобазол, бупивакаин, ионные токи.

#### ◆ Информация об авторах

*Вислобоков Анатолий Иванович* — д. б. н., заведующий отделом цитофармакологии Института фармакологии им. А. В. Вальдмана. ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И. П. Павлова» Минздрава России. 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6/8. Старший научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН. 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12. E-mail: vislobokov@yandex.ru.

*Мельников Константин Николаевич* — к. м. н., ассистент кафедры фармакологии Института фармакологии им. А. В. Вальдмана. ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И. П. Павлова» Минздрава России. 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6/8. E-mail: knmelnikov@mail.ru.

*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, 12. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

*Vislobokov Anatoliy Ivanovich* — Dr. Biol. Sci. (Physiology), Head, Dept. of Cytopharmacology. First St. Petersburg State Medical University, 6/8, Lev Tolstoy St., St. Petersburg, 197022; Senior Researcher, Anichkov Dept. of NeuroPharmacology, Institute of Experimental Medicine, NWB RAMS. 12, Acad. Pavlov St., St. Petersburg, 197376, Russia. E-mail: vislobokov@yandex.ru.

*Melnikov Konstantin Nikolayevich* — PhD (Pharmacology), Assistant Professor, Dept. of Pharmacology. First St. Petersburg State Medical University. 6/8, Lev Tolstoy St., St. Petersburg, 197022, Russia. E-mail: knmelnikov@mail.ru.

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