

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ МЕКСИДОЛА

В. Г. Мотин¹, Вик. В. Яснецов², А. А. Забозлаев³, С. К. Карсанова¹, В. В. Яснецов¹

В экспериментах на переживающих срезах продолговатого мозга белых нелинейных крысят-самцов (возраст 13–17 суток) установлено, что в нейронах медиального вестибулярного ядра мексидол в концентрации 5 мМ угнетает возбуждающий постсинаптический ток, вызванный ступенькой деполяризации, на $96 \pm 2\%$. На переживающих срезах гиппокампа в пирамидных нейронах поля CA1 мексидол (2,5–5 мМ) угнетает возбуждающий постсинаптический ток, вызванный раздражением коллатералей Шаффера, на $94 \pm 3\%$. В обеих структурах головного мозга специфический неконкурентный антагонист NMDA-рецепторного комплекса МК-801, в отличие от CNQX (специфический блокатор глутаматных AMPA-рецепторов), значительно ослабляет депрессирующие эффекты препарата. Следовательно, в основе центрального действия мексидола может лежать ингибирование ионных токов через каналы NMDA-рецепторного комплекса.

Ключевые слова: мексидол, медиальное вестибулярное ядро, гиппокамп, NMDA-рецепторный комплекс

ВВЕДЕНИЕ

Оригинальный отечественный лекарственный препарат мексидол (этилметилгидроксипиридина сукцинат), имеющий антиоксидантные и мембранопротекторные свойства, широко применяют в различных областях медицины. Особенно успешно его используют в неврологии и психиатрии при острой и хронической недостаточности мозгового кровообращения и связанных с ней заболеваниях, невротических и неврозоподобных расстройствах и др. [1, 2, 5]. Кроме того, нами ранее обнаружено, что мексидол оказывает противоукачивающее действие у человека и животных (кошек и крыс) [8]. При этом он способен прямо влиять, вызывая в основном угнетение, на большую часть нейронов медиального вестибулярного ядра (МВЯ) кошек, являющегося одним из центральных звеньев вестибуло-вегетативных рефлексов [6, 14].

Другая структура головного мозга для нашего электрофизиологического исследования — гиппокамп. Известна важная роль гиппокампа в процессах памяти и обучения у человека и животных. Например, он участвует в регистрации новой информации, формировании декларативной памяти, пространственном обучении и др. [10–12].

Механизм действия, в том числе противоукачивающего, мексидола до конца не выяснен. Это явилось задачей настоящей работы.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на переживающих срезах гиппокампа и продолговатого мозга 48 белых нелинейных крысят-самцов возрастом 13–17 суток. Приготовление и инкубирование срезов толщиной 300–400 мкм проводилось так, как описано нами ранее [3]. Состав перфузионной среды (мМ): NaCl — 126, KCl — 3, NaH_2PO_4 — 1,25, MgSO_4 — 1,2, CaCl_2 — 2,4, NaHCO_3 — 26, глюкоза — 10. Раствор насыщали газовой смесью 95% O_2 и 5% CO_2 (pH 7,4 при температуре $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$). Скорость потока составляла 4 мл/мин. Период адаптации среза к указанной солевой среде продолжался не менее 1 ч, после чего приступали к регистрации исходных показателей.

С помощью метода локальной фиксации потенциала (patch-clamp) в конфигурации “целая клетка” регистрировали нейроны области CA1 гиппокампа и МВЯ, используя EPC-7 patch-clamp усилитель и боросиликатные микроэлектроды диаметром 1,5 мм (сопротивление 3–6 МОм) [13, 15]. Регистрировали возбуждающий постсинаптический ток (ВПСТ; EPSC), вызванный ступенькой деполяризации 10 мВ (при холдинг потенциале –70 мВ). Нейроны были визуализированы с помощью инфракрасной камеры IR-1000E. Все сигналы были отфильтрованы фильтром 30 кГц и зарегистрированы при помощи аналого-цифрового преобразователя и программы pClamp-7.

¹ Учреждение Российской академии наук “Государственный научный центр РФ — Институт медико-биологических проблем”, 123007, Москва, Хорошевское шоссе, 76 А.

² ОАО “Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ”, 142450, Московская область, Ногинский район, г. Старая Купавна, ул. Кирова, 23.

³ ООО “НПК “ФАРМАСОФТ”, Москва.

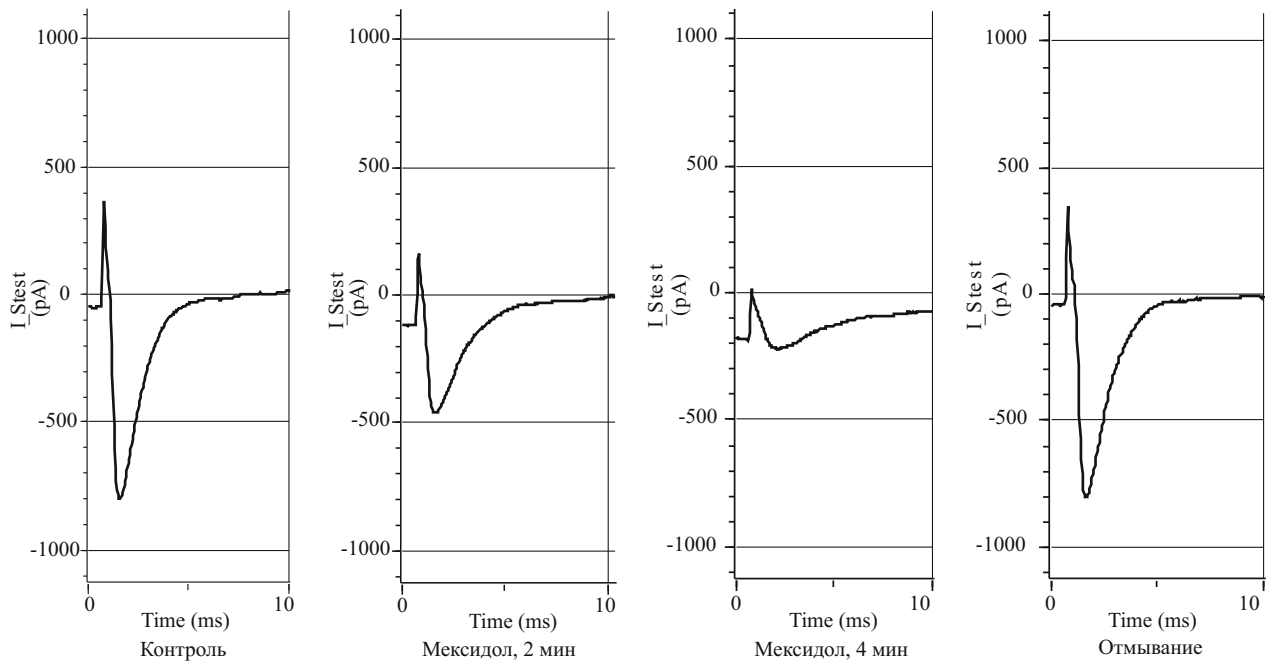


Рис. 1. Влияние мексидола (5 мМ) на возбуждающий постсинаптический ток в нейроне медиального вестибулярного ядра, вызванный ступенькой деполяризации 10 мВ (при холдинг потенциале -70 мВ; метод локальной фиксации потенциала в конфигурации “целая клетка”).

По оси абсцисс — время, мс; по оси ординат — величина тока, пА.

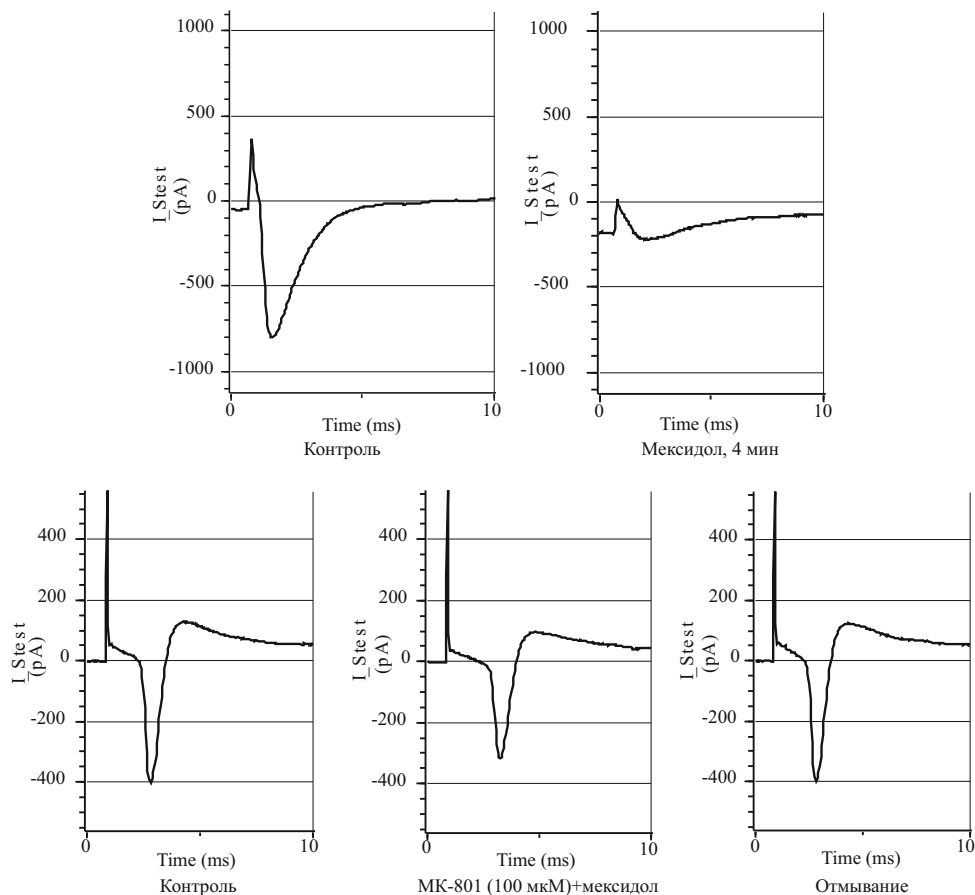


Рис. 2. Влияние мексидола (5 мМ) на фоне действия МК-801 (100 мкМ) на возбуждающий постсинаптический ток в нейроне МВЯ, вызванный ступенькой деполяризации 10 мВ.

По оси абсцисс — время, мс; по оси ординат — величина тока, пА.

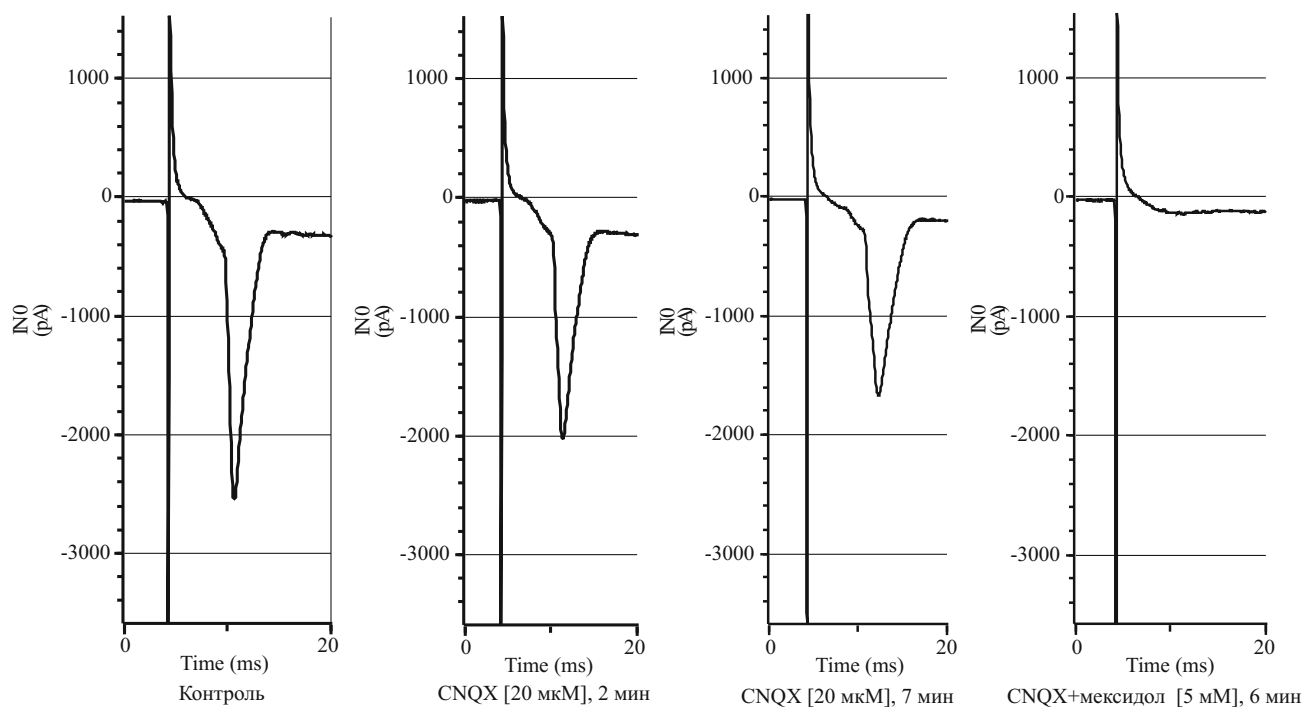


Рис. 3. Влияние мексидола (5 мМ) на фоне действия CNQX (20 мкМ) на возбуждающий постсинаптический ток в пирамидном нейроне поля CA1 гиппокампа, вызванный раздражением коллатералей Шаффера (метод локальной фиксации потенциала в конфигурации “целая клетка”).

По оси абсцисс — время, мс; по оси ординат — величина тока, пА.

Для обработки данных использовали программу Clampfit-9.

В качестве веществ-анализаторов были использованы специфический неконкурентный антагонист NMDA-рецепторного комплекса МК-801 (“Merck Sharp & Dohme”, США) и специфический блокатор глутаматных AMPA-рецепторов CNQX (“Tocris”, Великобритания).

Было исследовано влияние мексидола на ВПСТ в нейронах МВЯ, вызванный ступенькой деполяризации 10 мВ, и пирамидных нейронах поля CA1 гиппокампа, вызванный раздражением коллатералей Шаффера. Электрическую стимуляцию афферентных волокон (коллатералей Шаффера) осуществляли посредством электродов [3]. Исследовали также влияние веществ-анализаторов на эффекты мексидола.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием программы StatPlus 2009 Professional.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаружено, что в нейронах МВЯ мексидол в концентрации 5 мМ ($n = 23$) значимо ($p < 0,05$) угнетает ВПСТ, вызванный ступенькой деполяризации 10 мВ (при холдинг потенциале -70 мВ) на $96 \pm 2\%$ (рис. 1). Указанный угнетающий эффект обычно наступал через 4–5 мин после добавления в омывающий срезы

раствор мексидола. После отмывания вещества ВПСТ полностью восстанавливался.

Специфический блокатор глутаматных AMPA-рецепторов CNQX ($n = 8$) практически не изменял эффект мексидола.

В отличие от CNQX на фоне действия специфического неконкурентного антагониста NMDA-рецепторного комплекса МК-801 (в концентрации 100 мкМ; $n = 10$) депрессирующий эффект мексидола ослаблялся на $83 \pm 2\%$ (рис. 2).

В пирамидных нейронах поля CA1 гиппокампа мексидол (2,5–5 мМ; $n = 16$) угнетает ВПСТ, вызванный раздражением коллатералей Шаффера, на $94 \pm 3\%$ (рис. 3). Специфический блокатор глутаматных AMPA-рецепторов CNQX ($n = 9$) практически не изменял эффект мексидола (рис. 3). Специфический неконкурентный антагонист NMDA-рецепторного комплекса МК-801 (в концентрации 300 мкМ; $n = 8$) как таковой практически не изменял ВПСТ, вызванный раздражением коллатералей Шаффера. Следовательно, на уровне гиппокампа глутаматные AMPA-рецепторы не вовлечены в механизм благоприятного действия мексидола.

В отличие от CNQX на фоне действия МК-801 (300 мкМ; $n = 13$) депрессирующий эффект мексидола ослаблялся на $86 \pm 2\%$ (рис. 4).

Полученные нами результаты о подавляющем воздействии мексидола в отношении ВПСТ, наряду с уг-

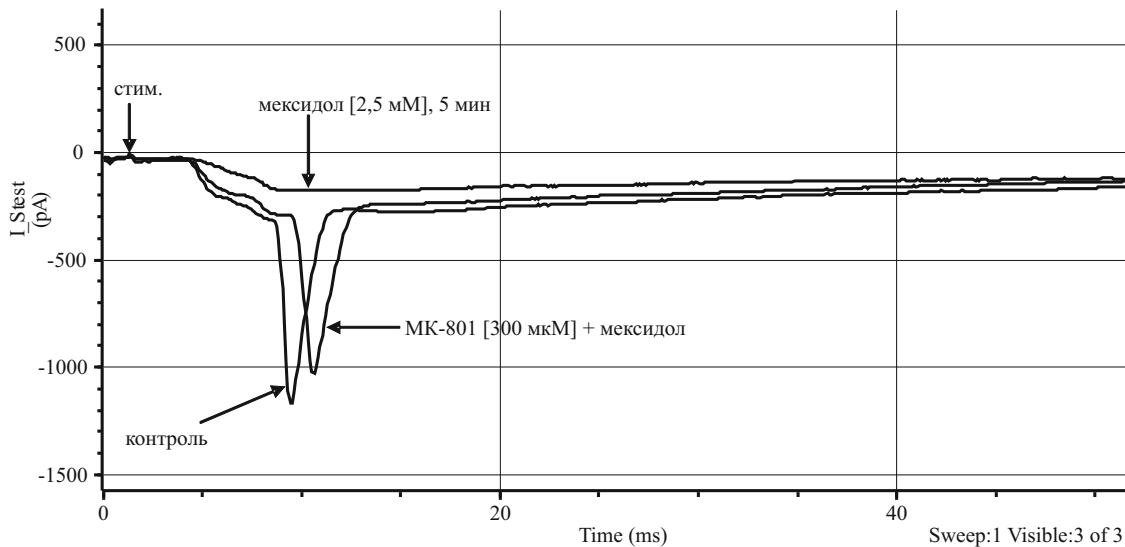


Рис. 4. Влияние мексидола (в концентрации 2,5 мМ) на фоне действия МК-801 (300 мкМ) на возбуждающий постсинаптический ток в пирамидном нейроне поля СА1 гиппокампа, вызванный раздражением коллатералей Шаффера (метод локальной фиксации потенциала в конфигурации “целая клетка”).

По оси абсцисс — время, мс; по оси ординат — величина тока, пА.

нетающим влиянием препарата на импульсную активность нейронов МВЯ [8] и данными о наличии в МВЯ глутаматных и ГАМК_A-рецепторов [6, 9, 14, 15], свидетельствуют о том, что в основе противоукачивающего действия мексидола могут лежать ионные механизмы с вовлечением глутамат- и ГАМК-ергического компонентов, в первую очередь, ингибирование ионных токов через каналы NMDA-рецепторного комплекса.

В экспериментах на переживающих срезах гиппокампа установлено, что в пирамидных нейронах поля СА1 мексидол угнетает ВПСТ, вызванный раздражением коллатералей Шаффера, а МК-801 значительно ослабляет депрессирующий эффект препарата. Следовательно, в гиппокампе основу центрального действия мексидола могут составлять ионные механизмы с вовлечением глутамат- и ГАМК-ергического компонентов, в первую очередь ингибирование ионных токов через каналы NMDA-рецепторного комплекса.

Полученные нами результаты согласуются с данными литературы. Так, ранее была обнаружена способность мексидола оказывать прямое влияние, главным образом угнетающее, на большинство нейронов неокортекса кошек и гиппокампа кроликов [4, 7]. В пользу полученных нами данных могут также свидетельствовать результаты нашего более раннего исследования [3], в котором было показано, что мексидол угнетает синаптическую передачу в системе “коллатерали Шаффера — пирамиды поля СА1 гиппокампа” крыс, а специфический неконкурентный антагонист NMDA-рецепторного комплекса МК-801 ослабляет депрессирующий эффект.

Обобщая собственные и литературные данные, можно заключить, что мексидол способен оказывать прямое влияние на нейроны разных структур головно-

го мозга, в том числе МВЯ, гиппокампа и неокортекса. Это прямое влияние препарата приводит, в частности, к угнетению импульсной активности нейронов и синаптической передачи в системе “коллатерали Шаффера — пирамидные нейроны поля СА1 гиппокампа”, а также лежит в основе центрального действия мексидола, в том числе на высшие интегративные функции мозга, и в защите последних от различных факторов. При этом существенное значение может иметь влияние мексидола на ионные механизмы с вовлечением глутамат- и ГАМК-ергического компонентов, в первую очередь ингибирование ионных токов через каналы NMDA-рецепторного комплекса.

ВЫВОДЫ

1. На переживающих срезах продолговатого мозга белых нелинейных крысят-самцов в нейронах медиального вестибулярного ядра мексидол в концентрации 5 мМ угнетает возбуждающий постсинаптический ток, вызванный ступенькой деполяризации. Специфический неконкурентный антагонист NMDA-рецепторного комплекса МК-801, в отличие от CNQX (специфический блокатор глутаматных AMPA-рецепторов), ослабляет депрессирующий эффект препарата.

2. На переживающих срезах гиппокампа крысят в пирамидных нейронах поля СА1 мексидол в концентрации 2,5 – 5 мМ угнетает возбуждающий постсинаптический ток, вызванный раздражением коллатералей Шаффера. Специфический неконкурентный антагонист NMDA-рецепторного комплекса МК-801, в отличие от CNQX, ослабляет депрессирующий эффект препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Т. А. Воронина, *Отечественный препарат нового поколения мексидол: основные эффекты, механизм действия, применение*, Москва (2004).
2. Е. Ю. Демченко, Н. В. Кулакова, Т. А. Семиглазова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **71**(6), 13 – 15 (2008).
3. В. Г. Мотин, В. В. Яснецов, С. М. Ковалев, И. Н. Крылова, *Бюл. экспер. биол.*, **130**(9), 252 – 254 (2000).
4. Н. А. Соловьев, Вик. В. Яснецов, *Бюл. экспер. биол.* Прил. 1, 230 – 242 (2006).
5. З. А. Суслина, М. А. Пирадов (ред.), *Инсульт: диагностика, лечение, профилактика*, Медпресс-информ, Москва (2008).
6. В. В. Яснецов, В. С. Шашков, *Нейрохимические и фармакотерапевтические аспекты болезни движения*, ВИНТИ РАН, Москва (1993).
7. В. В. Яснецов, В. А. Правдивцев, И. Н. Крылова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **64**(6), 3 – 6 (2001).
8. В. В. Яснецов, В. А. Правдивцев, А. В. Шашков и др., *Авиакосм. и эколог. мед.*, **39**(4), 45 – 49 (2005).
9. S. Grassi, A. Fronzaroli, V. E. Pettorossi, *J. Physiol.*, **543**(Pt. 3), 795 – 806 (2002).
10. A. Jeneson, C. B. Kirwan, R. O. Hopkins, et al., *Learn. Mem.*, **17**(1), 852 – 859 (2010).
11. W. R. Markesbery, *J. Alzheimers Dis.*, **19**(1), 221 – 228 (2010).
12. E. A. Phelps, *Curr. Opin. Neurobiol.*, **14**(2), 198 – 202 (2004).
13. C. Sekirnjak, S. du Lac, *J. Neurosci.*, **22**(6), 2083 – 2095 (2002).
14. P. F. Smith, *Current Opinion in Neurology.*, **13**(1), 31 – 37 (2000).
15. T. Takazawa, Y. Saito, K. Tsuzuki, S. Ozawa, *J. Neurophysiol.*, **92**(5), 3106 – 3120 (2004).

Поступила 27.09.11

ELECTROPHYSIOLOGICAL STUDY OF THE MECHANISM OF MEXIDOL ACTION

V. G. Motin¹, Vic. V. Yasnetsov², A. A. Zabozaev³, S. K. Karsanova¹, and V. V. Yasnetsov¹¹ State Scientific Center of Russian Federation – Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Khoroshevskoe shosse 76a, Moscow, 123007, Russia² All-Russia Center for Safety of Biologically Active Substances, ul. Kirova 23, Staraya Kupavna, Moscow oblast, 142450, Russia³ PHARMASOFT Company, ul. Smirnovskaya 4a/3, Moscow, 109052, Russia

It has been found that mexidol (5 mM) significantly ($96 \pm 2\%$) depressed excitatory postsynaptic current caused by step depolarization in neurons of medial vestibular nucleus of medulla oblongata slices in young (aged 13 – 17 days) male albino rats. In addition, mexidol (2,5 – 5 mM) depressed by $94 \pm 3\%$ excitatory postsynaptic current caused by Shaffer collaterals stimulation of CA1 pyramidal neurons of hippocampal slices in young rats. Complex MK-801 (non-competitive antagonist of NMDA receptors), in contrast to CNQX (competitive AMPA receptor antagonist), considerably decreased the depressant effect of the drug in both brain structures. Therefore, the central favorable effect of mexidol can be mediated by ion mechanisms with glutamate- and GABA-ergic components, primarily by the inhibition of ion currents through NMDA receptor complex.

Key words: Mexidol, medial vestibular nucleus, hippocampus, NMDA receptor complex