



Биол. журн. Армении, 2 (62), 2010

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЙОДМЕТИЛАТА 2–(ДИМЕТИЛАМИНО) ЭТИЛОВОГО АМИДА N–(P–МЕТОКСИБЕНЗОИЛ)–DL–ФЕНИЛАЛАНИНА НА ВНЕКЛЕТОЧНУЮ ФОНОВУЮ ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ОДИНОЧНЫХ МОТОНЕЙРОНОВ СПИННОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ЛЕВОСТОРОННЕЙ ЛАТЕРАЛЬНОЙ ГЕМИСЕКЦИИ

Т.С. ХАЧАТРЯН, И.Р. КАРАПЕТЯН, В.О. ТОПУЗЯН,
Т.К. КИПРИАН, Э.Ю. АРУТЮНЯН

*Институт тонкой органической химии им. А. Л. Миндзояна НАН РА,
Ереванский базовый медицинский колледж № 1*

Обсуждается вопрос применения йодметилата 2 – (диметиламино) этилового амида N – (p – метоксибензоил) – DL – фенилаланина у крыс с левосторонней латеральной гемисекцией спинного мозга. Полученные результаты свидетельствуют о положительном эффекте данного соединения на фоновую активность одиночных мотонейронов спинного мозга. Регистрация и анализ внеклеточной фоновой активности одиночных мотонейронов спинного мозга проводились посредством специальных программ в режиме on – line.

Мотонейроны – спинной мозг – фоновая активность– йодметилат 2 – (диметиламино) этилового амида N – (p – метоксибензоил) – DL – фенилаланина – гемисекция

Ուսումնասիրվել է յոդմեթիլատ 2 (դիմեթիլամին) էթիլ ամիդի N (n (մեթ(օքսիբենզոիլ)(DL(ֆենիլալանինի ազդեցությունը առնետների մոտ ողնուղեղի լատերալ կիսահատման դեպքում: Ստացված տվյալները վկայում են առնետների ողնուղեղի առանձին շարժանէյրոնների էլակետային ակտիվության վրա դրական միացության դրական ազդեցության մասին: Ողնուղեղի առանձին շարժանէյրոնների արտաբջջային էլակետային ակտիվության գրանցումը և վերլուծությունը կատարվել են հատուկ ծրագրերով՝ on(line ռեժիմում:

Շարժանէյրոններ (ողնուղեղ (էլակետային ակտիվություն (յոդմեթիլատ 2 (դիմեթիլամին) էթիլ ամիդ N (n (մեթօքսիբենզոիլ) (DL (ֆենիլալանինի (կիսահատում

In these series of investigations the issue of the use of iod-methylate 2 – (dimethylamino) ethyl N – (p – metoxybenzoil) – DL – fenilalanyn amid on rats with the left – side lateral hemisection of spinal cord is discussed. The obtained results show the protective effect of that substance on rats spinal cord single motoneurons background activity. The recording and analysis of the extracellular background activity of single motoneurons of spinal cord were done by means of a special software in on–line mode.

*Motoneurons – spinal cord – background activity – of iodomethylate 2 –
(dimethylamino) ethyl N – (p – metoxybenzoil) – DL – fenilalanyn amid –
hemisection*

Общеизвестно, что тяжёлая клиническая картина, высокая смертность, слабая результативность лечебных воздействий при органических повреждениях спинного мозга (СМ) вызывают чувство глубокой неудовлетворенности, как у клиницистов (нейрохирургов, невропатологов), так и у представителей теоретической медицины (нейрофизиологов, биохимиков, фармакологов, нейрогистохимиков и др.). Достижения медицинской науки во второй половине 20-го века способствовали снижению смертности при травматической болезни СМ [4]. Однако стойкость соматических и вегетативных нейрогенных нарушений является причиной инвалидизации подавляющего большинства больных с поражениями СМ, во время которых нарушается проведение нервных импульсов. Вышеизложенное свидетельствует о важности и актуальности проведения соответствующих научных исследований, направленных на разработку новых способов лечения этого весьма тяжёлого недуга. Исходя из публикаций, посвящённых восстановительным процессам повреждённого СМ, можно выделить три пути исследования: 1) исследование этих процессов без применения каких-либо препаратов; 2) применение реиннервации изолированного вследствие перерезки каудального участка СМ; 3) поиски средств, стимулирующих и благоприятствующих росту волокон повреждённых путей СМ.

Результаты исследований, полученные на 1-м пути, свидетельствуют о том, что проблема восстановления проводимости СМ у млекопитающих, после таких его тяжёлых поражений, как полная хордотомия, упиралась в непреодолимое до последнего времени препятствие главным образом потому, что в месте повреждения образовывался плотный рубцовый барьер, блокирующий позднее наблюдаемый регенеративный рост нервных волокон. Данные, полученные на 2-м и в особенности на 3-м пути исследований с применением некоторых препаратов (пиромен, пирогенал, пиронин, АКТГ, кортизон, антибластические вещества, NGF, гормональные и ферментные препараты и др.) и определённых воздействий (облучение, применение резорбирующихся трансплантатов, милипора и др.), показали, что при полной хордотомии можно добиться разной степени и продолжительности восстановления функций СМ и прорастания интраспинальных волокон. Однако малочисленность положительных результатов, их нестойкость, не всегда имеющееся соответствие регенерации и полноценности восстановления функций, разноречивость результатов в отношении одного и того же препарата (например, пиромена) или способа воздействия (например, тканевых трансплантатов), наличие побочных действий (например, от антибластических веществ) и т.д. указывают на необходимость углубленного изучения этой сложной, но в то же время важной проблемы как в теоретическом, так и в практическом отношениях. В работах [1 - 3, 5, 10] рассматриваются вопросы о состоянии восстановительных процессов при повреждении СМ у млекопитающих и при воздействиях в этих случаях разных препаратов. Помимо обсуждения большого литературного материала по данной проблеме центральное место занимают оригинальные экспериментальные данные с помощью электрофизиологических, нейроморфологических, гистохимических методик и математической статистике по сравнительному изучению эффективности как отдельных препаратов натурального и синтетического происхождения, так и их разных сочетаний и способов воздействия при повреждениях СМ.

Известно, что в коррегировании соматических и нейрогенных нарушений не второстепенна роль производных холина (эферы и амиды), заслуживающих существенного внимания с точки зрения особенностей их синтеза и биологической

активности и являющихся по химической структуре синтетическими аналогами нейромедиатора ацетилхолина [1, 6, 11, 12]. Согласно результатам исследований [12, 14–17], производными холина естественного происхождения осуществляется ряд важнейших функций в организме человека и животных. Вместе с тем продолжают отсутствовать сведения относительно применения эфиров и амидов холина при спинномозговых повреждениях различной степени выраженности.

В данной экспериментальной работе, учитывая особенности морфофизиологических, биохимических, гистохимических процессов повреждённого СМ и системы нейроэндокринной регуляции организма [6], проводится попытка исследования микроэлектрофизиологическими методами влияния одного из синтезированного нами амидов холина – йодметилата 2-(диметиламино) этилового амида N – (п- метоксибензоил) – DL-фенилаланина (ЙДЭАФ) при левосторонней латеральной гемисекции (ГМС) СМ крыс с целью дальнейшего изучения его воздействия на ингибирование роста рубцовой ткани, с одной стороны, а с другой – стимуляции этим соединением роста нервных волокон, чтобы добиться стойкого восстановления проводимости СМ.

Материал и методика. Эксперименты поставлены на 30 белых крысах – самцах, массой (210–230 г), разделённых на следующие подопытные группы: первая – 10 экз. – интактные животные; вторая – 10 экз. – животные с левосторонней латеральной ГМС СМ на уровне Т8–Т9; третья – 10 экз. – животные с левосторонней латеральной ГМС СМ на уровне Т8–Т9, получавшие в течение 1 месяца ежедневно сочетанные инъекции ЙДЭАФ в место повреждения СМ (дозировка – 200 мкг/кг массы животного, индивидуально). После проведения клинических наблюдений и дачи препаратов на всех 3 группах животных были поставлены электрофизиологические эксперименты. Микроэлектрофизиологическими методами посредством стеклянных микроэлектродов производили экстраклеточную регистрацию внеклеточной фоновой электрической активности (ФА) одиночных мотонейронов (МН) вентрального рога СМ крыс. Отведение активности исследуемых МН проводили стеклянным микроэлектродом с диаметром кончика 1–2 мк, заполненным 2М раствором NaCl. Регистрацию ФА МН проводили с помощью специально разработанной математической программы, обеспечивающей в режиме on-line селекцию спайков посредством амплитудной дискриминации спайков и последующим построением кумулятивной импульсной гистограммы для выбора необходимого режима записи вызванной активности одиночных МН СМ. Анализ полученных данных осуществляли по алгоритму, подробно описанному в наших предыдущих статьях [7, 8]. Более подробно с программной методикой наших экспериментов можно ознакомиться в работе [5].

Результаты и обсуждение. На рис. 1 демонстрируется пример кумулятивной (рис. 1, а) и суммированной (рис. 1, в) престаимпульсных гистограмм ФА одиночного МН (глубина 1200 мкм) в норме (рис. 1, 1, а, б, в); у животных с левосторонней латеральной ГМС СМ (глубина 1200 мкм, рис. 1, 2, а, б, в) и у животных с левосторонней латеральной ГМС СМ, получавших в течение 1 месяца ЙДЭАФ в вышесказанной дозировке (глубина 1200 мкм, рис. 1, 3, а, б, в). Как следует из приведённого рисунка, последствия спинномозгового повреждения проявляются в виде урежения вызванной пачечной активности одиночного мотонейрона по сравнению с нормой. Данный эффект хорошо виден на кумулятивной престаимпульсной гистограмме (рис. 1, 2, а, 1), где наблюдается резкое уменьшение числа импульсов в пачке, а также на суммированной (17 исп.) гистограмме (рис. 1, 2, в). Из рис. видно, что ЙДЭАФ вызывает учащение престаимпульсной активности МН, сопровождающееся исчезновением пачечной активности и восстановлением практически до нормы регулярного разряда МН (рис. 1, 3, а, б, в).

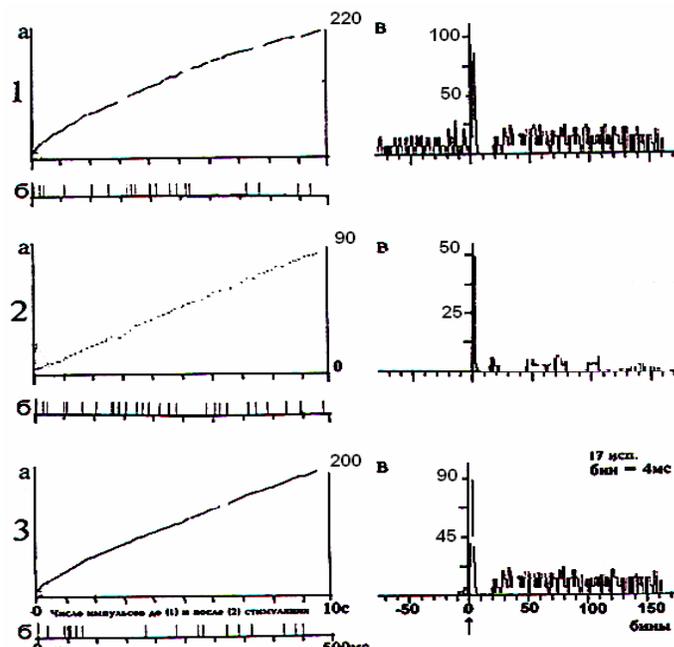


Рис. 1. Кумулятивные (а) и суммированные (в) престаимульные гистограммы внеклеточной фоновой активности одиночного мотонейрона (глубина 1200 мкм) вентрального рога спинного мозга крыс в норме (1 а, б, в); одиночного мотонейрона (глубина 1200 мкм) вентрального рога спинного мозга крыс при левосторонней латеральной гемисекции спинного мозга (2 а, б, в) и одиночного мотонейрона (глубина 1200 мкм) вентрального рога спинного мозга у крыс, получавших в течение 1 месяца ежедневно инъекции йодметилата 2 – (диметиламино) этилового амида N – (п – метоксibenзоил) – DL – фенилаланина в место повреждения (3 а, б, в). На «а»: ордината – число импульсов до и после стимуляции нерва, абсцисса – время регистрации импульсного потока. На «б»: картина импульсного потока после стимуляции нерва в избранном интервале времени. На «в»: ордината – процент импульсов (в бинах) от числа проб, абсцисса – последовательность бинов.

Ранее нами было описано влияние сочетанного комплекса тироксина и другого производного холина – йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира–N-(п-метоксibenзоил)–DL–фенилаланина на электрическую активность повреждённых травмой одиночных МН СМ крыс [2], а также применение сочетанного комплекса тироксина и йодметилата 2– диметиламино) этилового эфира – N – (п – метоксibenзоил) – DL – фенилаланина при патологии щитовидной железы у крыс – экспериментальном гипотиреозе и его влияние на изменение вызванной активности одиночных МН СМ [5] и зарегистрировано наличие стойких положительных результатов. Другие исследования свидетельствуют о благотворном влиянии йодметилата 2 – (диметиламино) этилового эфира – N – (п – метоксibenзоил) – DL – фенилаланина на фоновую и вызванную активность одиночных пирамидных нейронов IV слоя коры больших полушарий головного мозга крыс при латеральной ГМС СМ [3], а также эффекты малых доз йод-метилата 2 – (диметиламино) этилового эфира – N – (п – метоксibenзоил) – DL – фенилаланина на вызванную электрическую активность одиночных мотонейронов спинного мозга крыс при латеральной ГМС СМ [9]. Амиды холина, в частности ЙДЭАФ, оказывают более стойкий протекторный эффект в отношении ФА одиночных МН

СМ при левосторонней латеральной ГМС СМ вследствие, вероятно, особенностей химической структуры амидов, не подвергающихся в организме гидролизу в отличие от эфиров холина.

Анализируя проведенные исследования, можно прийти к выводу о том, что в целом имеется положительный эффект от применения ЙДЭАФ при органических повреждениях СМ у крыс с левосторонней латеральной ГМС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глебов Р.Н., Крыжановский Г.Н. Функциональная биохимия синапсов. М., Медицина, с. 196 – 219, 1978.
2. Киприян Т.К., Топузьян В.О., Карапетян И.Р., Хачатрян Т.С. Анализ влияния сочетанного комплекса тироксина и йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира-N-(п-метоксибензоил)-DL-фенил-аланина на электрическую активность повреждённых травмой одиночных мотонейронов спинного мозга крыс. В сб. Международная научная конференция «Актуальные проблемы интегративной деятельности и пластичности нервной системы» посвящ. 80 – летию со дня рождения академика НАН РА и чл. – корр. РАН В. В. Фанарджяна, Ереван, Изд. «Гитутюн» НАН РА, с. 154 – 158, 2009.
3. Киприян Т.К., Топузьян В.О., Карапетян И.Р., Арутюнян Э.Ю., Хачатрян Т.С. Влияние йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира –N-(п-метоксибензоил)-DL-фенилаланина на фоновую и вызванную активность одиночных пирамидных нейронов IV слоя коры больших полушарий головного мозга крыс при латеральной гемисекции спинного мозга. Ж. Мед. Наука Армении, XLIX, 2, с. 31 – 34, 2009.
4. Матинян Л.А., Андреасян А.С. Ферментотерапия при органических повреждениях спинного мозга. Изд. АН АрмССР, Ереван, с. 22, 1973.
5. Матинян Л.А., Нагапетян Х.О., Хачатрян Т.С. Протекция сочетанным комплексом тироксина и йодметилата 2 – (диметиламино) этилового эфира – N-(п-метоксибензоил)-DL-фенилаланина вызванной активности одиночных мотонейронов спинного мозга крыс при экспериментальном гипотиреозе. В сб. Международная научная конференция «Актуальные проблемы интегративной деятельности и пластичности нервной системы» посвящ. 80 – летию со дня рождения академика НАН РА и чл.-корр. РАН В. В. Фанарджяна, Ереван, Изд. «Гитутюн» НАН РА, с. 175–178, 2009.
6. Ткачук В.А. Молекулярные механизмы нейроэндокринной регуляции. Ж. Соросовский образовательный журнал, № 6, с. 5–10, 1998.
7. Хачатрян Т.С., Матинян Л.А., Андреасян А.С., Киприян Т.К. Роль тироксина в изменении электрической активности интернейронов и мотонейронов повреждённого спинного мозга крыс. Ж. Вопросы теоретической и клинической медицины, 2002, 5, 1 (25), 40 – 45.
8. Хачатрян Т.С. Действие лидазы и тироксина на фоновую электрическую активность одиночных пирамидных нейронов коры больших полушарий крыс. Биолог. журн. Армении, 59, 3–4, 198–202, 2007.
9. Хачатрян Т.С., Топузьян В.О., Карапетян И.Р., Арутюнян Э.Ю., Киприян Т.К. Эффекты малых доз йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира –N-(п-метоксибензоил)-DL-фенилаланина на вызванную электрическую активность одиночных мотонейронов спинного мозга крыс при латеральной гемисекции спинного мозга. Ж. Биолог. Журн. Армении, 61, 2, с. 53 – 56, 2009.
10. Benes V. Poraneni michi. 1965. Praha, 184.
11. Bhini V.S., Schafer U.A., Li R., Huang J., Hannoufa A. J. Targeted modulation of sinapine biosynthesis pathway for seed quality improvement in Brassica napus. Transgenic Res., 1, pp. 31–44. 2009.

12. *Bottcher C., von Roepenack – Lahaye E., Schmidt J., Clemens S., Scheel D.* Analysis of phenolic choline esters from seeds of *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* by capillary liquid chromatography/electrospray- tandem mass spectrometry. *J. Mass spectrum.*, 2009, 4, 44, pp. 466 – 476.
13. *Fawcett J.V.* Binding spinal cord injuries. *J. Rehabil. Med.*, 9, 40, pp. 780–782, 2008.
14. *Genovese T., Esposito E., Mazzon E., Muia C., Di Paola R., Meli R., Bramanti P., Cuzzocrea S.* Absence of endogenous interleukin-10 enhances secondary inflammatory process after spinal cord compression injury in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 7, pp. 20–29, 2008.
15. *Iasnetsov V. V., Pravdivtsev V. A., Motin V. G., Karsanova S. K., Ivanov Iu. V.* Modification by various neuromediators and regulatory peptides of the impulsion activity of neurons in the medial vestibular nucleus. *J. Aviakosm. Ekolog. Med.*, 3, 42, pp. 61–63, 2008.
16. *Perez–Orribo L., Perez–Lorensu P.J., Roldan – Delgado H., Garcia–Conde M., Spreafico M., Garcia – Marin V.* Intraoperative neurophysiological monitoring of the spinal cord: our experience. *J. Rev. Neurol.*, 5, 47, pp. 236 – 241, 2008.
17. *Placzek A.N., Dani J.A.* . Synaptic plasticity within midbrain dopamine centers contributes to nicotine addiction. *J. Nebr. Symp. Motiv.*, 55, pp. 5–5, 2009.

Поступила 09.11.2009.